R. H. Kirscht

Freiburg i. Br 1978

Aus dem Zentrum Chirurgie

der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

Vergleichende Untersuchung über die Wirkung von Neostigmin, Distigmin und Caeruletide beim mechanischen Ileus des Kaninchens.

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung des Medizinischen Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Albert-Ludwigs-Universität

Freiburg i. Br.

vorgelegt 1978

v o n Rainer Hermann Kirscht

geboren in Sasbachwalden

Dekan : Prof. Dr. med. Hugo Steim

Referent: Prof. Dr. med. Hans-Gert Hartung

gewidmet meiner lieben Frau in dankbarer Anerkennung für die Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG:

Die normale Darmpassage setzt freie Durchgängigkeit des Darmkanals und auch Leistung der Gewebe der Darmwand (Schleimhaut, glatte Muskulatur, autonomer Terminalplexus) voraus. Unter Ileus versteht man eine hochgradige Behinderung oder vollständige Aufhebung der Darmwegsamkeit (ABDERHALDEN 1; VOLKMANN 28) bzw. herabgesetzte oder fehlende Leistung der Elemente des Darmkanals mit den dadurch verursachten Symptomen (Meteorismus, Kolik, Darmsteifung usw.).

Bei der komplexen Natur der Ursachen der tiefgreifenden Störung der Darmmotorik im Geschehen des paralytischen Ileus sind pharmakodynamische Überlegungen zwangsweise eng mit pathologisch-physiologischen Betrachtungen verbunden. Im Vordergrund steht die Erschlaffung und Überdehnung weiter Abschnitte des Darmes bei völligem Fehlen einer eigenreflektorisch gesteuerten Motorik. Die Darmmotorik steht unter dem dominierenden Einfluß des parasympathischen-cholinergen Nervensystems, wobei die Innervation bis zum Cannon-Böhmschen Punkt über den Nervus vagus und von da ab über den Nervus pelvicus erfolgt. Die synaptische Umschaltung der cholinergen Versorgung des Darmes erfolgt in den Ganglien der intramuralen Plexus myentericus und submucosus.

Die postganglionären Neurone enden ohne Endplatten in feinen Verzweigungen an den glatten Muskelfasern (s. schematische Darstellung).

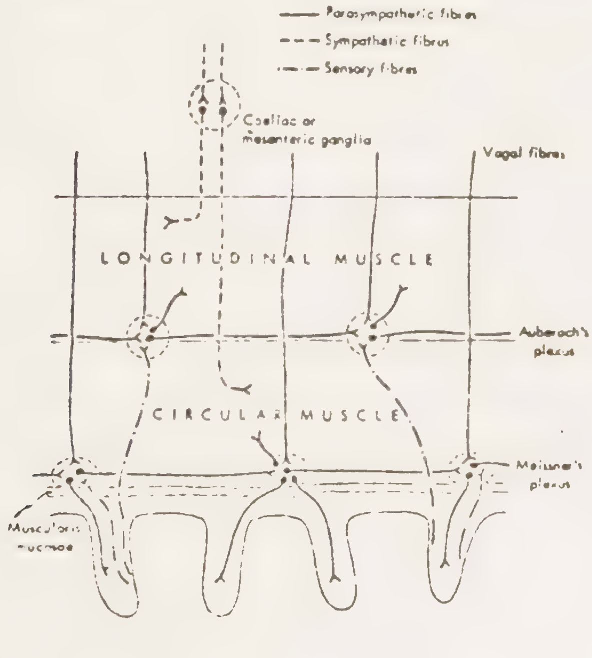


Abb. 1. Schema der Innervation des Gastrointestinaltraktes nach Lewis's Pharmacology, 4. Ed. Livingstone Edinburgh und London 1970

Die sympathische Versorgung des Darmes ist im wesentlichen postganglionär aus den Ganglien coeliacum, mesentericum superius und inferius.

An den postsynaptischen cholinergen Neuronen wirkt Acetylcholin und an den postsynaptischen sympathischen Neuronen Noradrenalin als Transmittersubstanz zwischen Nerv und glatter Muskelzelle.

Für die Stimulierung der Darmmotorik ergibt sich zunächst daraus eine Zweiteilung der pharmakotherapeutischen Angriffsmöglichkeiten:

1. Eine Bahnung und Intensivierung der ganglionären Erregungsüberleitung durch Verstärkung der Wirkung von Acetylcholin auf die Permeabilität der postsynaptischen Membranen
   a) durch Hemmung des fermentativen Abbaues von Acetylcholin (Anticholinesterasen) und
   b) durch eine synergistische cholinerge Wirkung auf die Membranpermeabilität durch strukturell dem Acetylcholin nahestehende Stoffe wie Carbaminoylcholin, Methylacetylcholin (Methacholin) und Methylcarbaminoylcholin (Bethanechol) sowie auch durch tertiäre Amine wie Nikotin.
2. Durch direkte Erregung an der glatten Muskelzelle,
   a) wieder durch Verhinderung des fermentativen Abbaues von Acetylcholin durch Anticholinesterasen oder
   b) durch eine direkte Wirkung auf die Membran glatter Muskelfasern oder auf die Vorgänge der elektromechanischen Koppelung bzw. der Kontraktion selbst. (Neben den oben angeführten Cholinestern, Histamin, 5-Hydroxytryptamin und Bariumionen).

Welche von beiden Wirkungsmöglichkeiten spielt nun bei exogener Zufuhr von erregenden Pharmaka die dominierende Rolle?

Aus Versuchen an isolierten Darmabschnitten ist bekannt, daß cholinerg wirkende Substanzen im wesentlichen nur über eine Erregung intramuraler ganglionärer Synapsen wirken, wie dies

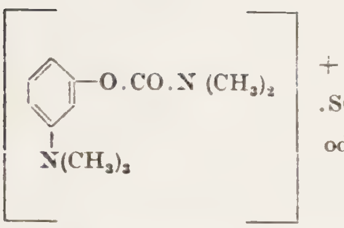
vor allem durch die Blockierarbeit der Effekte durch Ganglienblocker, wie Hexamethonium, hervorgeht (VAUGHAN 27).

In Übereinstimmung damit ist die Wirkung von Anticholinesterasen (Neostigmin, Distigmin, Alkylphosphate) klinisch an die Intaktheit intramuraler Ganglien gebunden.

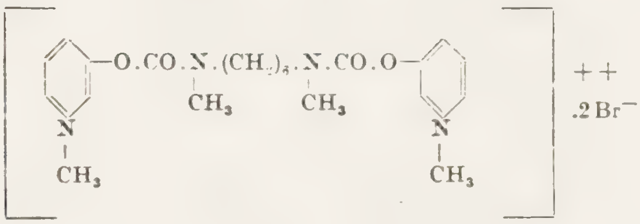
THEORETISCHER TEIL

In der folgenden Arbeit sollen die Cholinesterasehemmkörper Distigmin und Neostigmin in ihrer Wirkung auf die Darmmotilität des Kaninchens mit der Wirkung von Caeruletide verglichen werden.

Chemie der Cholinesterasehemmkörper:



NEOSTIGMIN



BC 51
Hexamarium
Distigmin

Pharmakologie der Cholinesterasehemmkörper:

Worin besteht nun das Wesen der sogenannten Cholinesterasehemmer: Acetylcholin wird im lebenden Organismus nach seiner Freisetzung aus einer inaktiven Vorstufe durch das Ferment Cholinesterase (ChE) in Essigsäure und Cholin gespalten und dadurch unwirksam. Die ChE - auf die erstmalig von LOEWI (2o) und NAVRATIL (24) hingewiesen wurde - ist nach GALEHR und PLATTNER (15) in mindestens zwei verschiedenen Typen nachweisbar, die seit MENDEL und RUDNEY (22) in eine echte (EChE) und eine Pseudo-ChE (SChE) unterschieden werden. Erstere spaltet nur ACh und keine anderen Cholinester, weshalb sie auch als spezifische oder Acetyl-ChE bezeichnet wird. Demgegenüber gibt es eine Reihe unspezifischer Esterasen, die auch andere Cholinester hydrolysieren (Pseudo-ChE, Serum-ChE oder unspezifische ChE).
Von den wesentlichsten Unterschieden (STUMPF 25) seien hier nur folgende erwähnt: die EChE ist beim Menschen vorwiegend

in den Erythrocyten und im Nervengewebe nachweisbar. Da in den Erythrocyten aber keine SChE, sondern nur EChE vorkommt, wird diese daher auch als Erythrocyten-ChE bezeichnet. Die unspezifische ChE ist dagegen im Blutserum, Plasma, Pankreas u. a. Drüsen nachweisbar. ACh wird von beiden ChE gespalten, von der EChE allerdings schneller als von der SChE.

Anticholinesterasen (Anti-ChE) sind Stoffe, die bereits in relativ niedriger Konzentration die Aktivität der Cholinesterase zu hemmen vermögen. Sie können sich mit dem Ferment an Stellen verbinden, die nicht mit jenem Bereich identisch sind, an dem das Substrat gebunden wird. Es handelt sich, in diesem selten vorkommenden Fall, um eine nicht kompetitive Hemmung. Meistens werden aber Substrat und Hemmstoff an den selben Arealen der Enzymoberfläche, also kompetitiv, gebunden.

Nach BERGMANN und SHIMONI (6) lassen sich die kompetitiven Anti-ChE nach dem Ort der Bindung an die ChE in drei Gruppen einteilen:

1. Hemmstoffe, die sich nur mit der esteratischen Stelle verbinden: Diisopropylfluorophosphat (DFP), Tetraäthylpyrophosphat (TEPP).

2. Hemmkörper, die nur mit den anionischen Stellen reagieren: quaternäre Ammoniumbasen.

3. Hemmsubstanzen, die sich mit esteratischen und anionischen Stellen verbinden: Physostigmin, Neostigmin, Pyridostigmin und bisquaternäre Ammoniumbasen.

Nicht alle Anti-ChE hemmen die beiden ChE-Typen gleichermaßen. So blockieren die quaternären Ammoniumbasen ohne Estergruppe nur die EChE, da an der Oberfläche der SChE nur esteratische Stellen vorkommen. Zu den selektiven Hemmstoffen der SChE zählen die meisten phosphorhaltigen Anti-ChE, wie z.B. das DFP. Auch Stellungsisomerien können die Selektivität der ChE-Hemmung entscheidend bestimmen.

Wirkungsmechanismus der Cholinesterasehemmkörper:

Kommt die ChE mit dem Substrat ACh - ein physiologischer Vorgang - zur Reaktion, so bildet sich nach einer lockeren Anlagerung von ACh an die ChE ein acyliertes Enzym, dessen hydrolytische Spaltung rasch erfolgt. Ähnlich erfolgt auch die Anlagerung eines Hemmkörpers an das Enzym und bildet so einen Enzym-Inhibitorkomplex. Die Stabilität desselben bedingt die Dauer der ChE-Hemmung.

Hemmsubstanzen, die sich sowohl mit esteratischen als auch mit anionischen Stellen verbinden und monomeren Charakter haben, wie Neostigmin und Physostigmin, sind in dem Ezym-Inhibitorkomplex einer Dissoziation leicht zugänglich und somit reversibel und kürzer wirksam.

Bei der Hemmung der ChE durch Dialkylarylphosphate dagegen bildet sich nach einer kurzdauernden, lockeren und reversiblen Anlagerung des Inhibitors an die ChE ein phosphoryliertes Enzym, dessen hydrolytische Spaltung nur sehr langsam erfolgen kann. Somit wird die ChE durch ihre Phosphorylierung nahezu irreversibel gehemmt. Dies erklärt die lange Wirkung der Dialkylarylphosphate, die praktisch irreversibel ist. Dies zeigt sich besonders in den Schwierigkeiten der Behandlung von Vergiftungen mit den phosphorhaltigen Insektiziden wie z.B. E 605.

Zwischen den kürzer wirksamen Carbaminosäureestern vom Typ des Physostigmins und den Alkylphosphaten mit irreversibler Enzymbindung wurde mit den bis-funktionellen Carbaminosäureestern, z.B. Hexamethylen-bis- (N-methylcarbaminsäure-3-pyridylesterbrommethylat), ein Typ von ChE-Hemmstoffen entwickelt, die bei längerer Wirkungsdauer als ihre monomeren Analoge eine wesentlich geringere Toxizität als die phosphorhaltigen Anti-ChE besitzen. Diese Vereinigung von zwei Wirkgruppen in einem Molekül bedingt eine größere Stabilität des Enzym-Inhibitorkomplexes und damit eine Protahierung der Wirkung. Dies schuf die Möglichkeit für eine Langzeit-

prophylaxe, wie sie insbesondere zur Verhütung urologischer Komplikationen nach abdominaler Radikaloperation des Kollumkarzinoms entwickelt wurden.

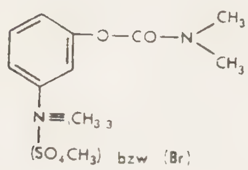
Als Maß der Intensität einer Anti-ChE wird meistens der pI-5o-Wert verwendet. Unter diesem versteht man den negativen Logarithmus jener molaren Hemmkörperkonzentration, die eine 50 %ige Hemmung der ChE bewirkt.

Das Neostigmin ist ein Dimethylcarbaminsäureester von m-Hydroxyphenyl-trimethylammonium-methylsulfat; seine pI-Werte liegen bei 8, wobei die Hemmwirkung für beide ChE-Gruppen annähernd gleich ist. Die mittlere Wirkungsdauer auf die Darmmotilität beträgt etwa zwei Stunden (HAMAGUCHI 16).
Auf den Dünn- und Dickdarm wirkt Neostigmin im Sinne einer Erhöhung von Tonus, Kontraktionsamplitude und Frequenz und beschleunigt somit den Transport des Darminhaltes.

Mittels Koppelung zweier monomerer niedermolekularer Anti-ChE durch eine Polymethylenkette zu symmetrischen Molekülen gelang dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien in Zusammenarbeit mit den Chemikern der Österreichischen Stickstoffwerke AG. Linz die Entwicklung hochwirksamer ChE-Hemmstoffe, die ihre monomeren Analoge bezüglich ihrer Wirkungsdauer um ein Mehrfaches übertreffen. Aus dieser Reihe der sogenannten Dialkylbiscarbaminate, früher auch BC-Körper genannt, die von KRAUPP (18), HERZFELD (17) und ihren Mitarbeitern pharmakologisch geprüft wurden, sei hier nur Distigmin erwähnt. Die pI-Werte betragen für die EChE 6,95 und für die SChE 5,7. Die Anticurarewirkung, die bei Neostigmin nach 100-120 Minuten aufhört, hält bei Distigmin etwa 25 Stunden an (HERZFELD 17 und Mitarbeiter).

NEOSTIGMIN

Chemie: Dimethylcarbamoyloxyphenyltrimethylammonium-methylsulfat.



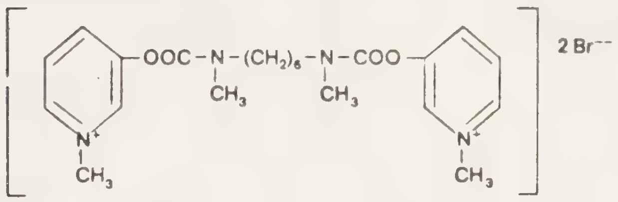
Pharmakologie:

Neostigmin vermindert die Abbaugeschwindigkeit von Acetylcholin, weil es, abhängig von der Konzentration, einen mehr oder minder großen Teil der Cholinesterasemoleküle blockiert. Neostigmin hat nicht nur eine große Affinität zur Esterase, sondern in geringerem Maße auch zu den Acetylcholinrezeptoren. Unter bestimmten experimentellen Bedingungen läßt sich eine acetylcholinartige, direkte Wirkung des Neostigmins nachweisen (KUSCHINSKY 19).

DISTIGMIN

Distigmin entstammt einer Reihe hochwirksamer Cholinesterasehemmstoffe, die in dem Forschungslabor der Fa. Chemie Linz AG synthetisiert wurden. Diese Verbindungen enthalten zwei funktionelle Gruppen, die durch Polymethylenketten verknüpft sind und übertreffen monomere Cholinesterasehemmkörper hinsichtlich ihrer Wirkungsdauer um ein Vielfaches.

Chemie: Hexamethylen-bis-(N-methylcarbaminsäure-3-pyridylester-brommethylat), ist eine kristalline Substanz, gut wasserlöslich, in wäßriger Lösung stabil und sterilisierbar.



Distigminbromid

Pharmakologie:

Im Tierversuch zeigen sich bei nicht narkotisierten Ratten als erstes Anzeichen einer Wirkung Muskelfibrillieren. Höhere Dosen bewirken eine motorische Lähmung und Chromodakryorrhoe. Auffallend ist der langsame Wirkungseintritt und die lange Wirkungsdauer. Nach intravenöser Injektion von 100 $\mu g/kg$ sind erst nach etwa 30 Minuten alle Tiere gelähmt.

CAERULETIDE

Chemie:

Caeruletide ist ein Decapeptid, das in erheblichen Mengen in der Haut des australischen Amphibiums Hyla caerulea (400-700 ug/g getrockneter Haut) und in geringeren Mengen in der Haut anderer australischer Hylae vorhanden ist (DE CARO 13). Caeruletide oder sehr ähnliche Substanzen befinden sich auch in der Haut einiger südamerikanischer Phyllomedusae (bes. Phyll. sauvagi) und in einigen südamerikanischen Leptdactylus (Lept. laticeps, Lept. pendactylus, usw.).

Caeruletide wurde bis vor kurzem ausschließlich aus der getrockneten Haut von Hyla caerulea gewonnen (ANASTASI 3). Vollständige und partielle Hydrolyse, Verdauung mit Chymotrypsin und Subtilysin und Versuche zur Ermittlung der Endgruppen der Peptidfragmente, die man durch Spaltung erhalten hatte, beweisen, daß Caeruletide ein Decapeptid mit folgender Struktur ist (ANASTASI 3, 4, 5)

Pyr - Glu - Asp - Tyr - Thr - Gly - Trp - Met - Asp - Phe - NH_2
(Tyr: SO_3H)

Ein Blick auf die Zusammensetzung und die Sequenz der Aminosäuren im Caeruletidemolekül und im Gastrinmolekül (menschl. Gastrin II) ergibt die enge chemische Verwandtschaft dieser beiden Peptide:

Caeruletide:

Pyr - Glu - Asp - Tyr - Thr - Gly - Trp - Met - Asp - Phe - NH_2
(Tyr: SO_3H)

Gastrin:

Pyr-Gly-Pro-Tyr-$(Glu)_5$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH_2
(Tyr: SO_3H)

Diese Ähnlichkeit erklärt in ausreichender Weise die außerordentliche Analogie dieser beiden Peptide hinsichtlich der Stimulation der Magensekretion.

Caeruletide hat außerdem mit einem Duodenalhormon, dem Cholecystokinin-Pankreozymin, eine starke stimulierende Wirkung auf die Motilität der Gallenblase und auf die Pankreassekretion gemeinsam. Auch in diesem Fall besteht eine Ähnlichkeit zwischen den beiden C-terminalen Octapeptiden.

C-terminales Octapeptid des Cholecystokinins:

Asp - Tyr - (SO_3H) - Met - Gly - Trp - Met - Asp - Phe - NH_2

Die Isolierung und Strukturaufklärung erlaubten schon bald die Synthese der Verbindung (ANASTASI, BERNARDI 3, 7, 8).

Die synthetische Verbindung hat folgende chemisch-physikalische Eigenschaften:

Chemischer Name:
Pyroglutamyl-glutaminyl-aspartyl-tyrosyl-(O-sulfat)-threonyl-glycyl-tryptophanyl-methionyl-aspartyl-phenyl-alaminamid.

Summenformel:
$C_{58}H_{73}N_{13}O_{21}S_2$ (C = 51,5; H = 5,4; N = 13,5)
Schmelzpunkt (mit Dekomposition): 224 - 226 C
Spezifisches Drehvermögen: $^{20}_{D}$ - 26 , c1, DMF

Die Verbindung besitzt die gleichen elektrophoretischen , chromatographischen, biologischen und pharmakologischen Eigenschaften wie das natürliche Caeruletide. Dies gilt auch für das Verhalten gegenüber dem Chymotrypsin und dem Subtilysin und für die Spaltungsprozesse im allgemeinen.
Die pharmakologischen Untersuchungen wurden sowohl am rohen Methanolextrakt getrockneter Hyla caerulea-Häute als auch an naturreinem Caeruletide durchgeführt; dies gilt natürlich auch für das synthetische Caeruletide, obwohl die Erforschung der biologischen Wirkungsmechanismen von Caeruletide noch lange nicht als beendet betrachtet werden kann, werden heute diesem Peptid einige pharmakologische Eigenschaften zuerkannt, deren Natur und Wirkungsintensität in den letzten Jahren eingehend untersucht wurden.

Ein Teil dieser pharmakologischen Eigenschaften ermöglichte schon heute die klinische Anwendung von Caeruletide auf verschiedenen Gebieten der Medizin (Wirkung auf die Motilität der glatten Muskulatur des Magen-Darm-Traktes und Wirkungen auf die Sekretionen, die mit der gastrointestinalen Stimulation zusammenhängen).

Pharmakologie:

Im Rahmen dieser Arbeit soll neben der vielfältigen Wirkung von Caeruletide wie z.B. die Wirkung auf die Magensekretion, auf die Pankreassekretion, auf die Galleproduktion, auf das Herzkreislaufsystem nur die Wirkung auf die Motilität der glatten Muskulatur des Magen-Darm-Traktes näher betrachtet werden.

Caeruletide hat eine sehr starke stimulierende Wirkung auf die Muskulatur des Gastrointestinaltraktes "in situ" der verschiedenen untersuchten Tiergattungen. Die verschiedenen Segmente des Darmrohres reagieren unterschiedlich auf die Stimulierung von Caeruletide. Die durch Caeruletide bedingte Stimulierung des Darmrohres läßt sich gut am gesunden und wachen Tier beobachten.

Die starke Wirksamkeit von Caeruletide an den denervierten Magentaschen des Hundes (BERTACCINI 1o) zeigt immerhin, daß die kinetische Hauptwirkung von Caeruletide direkt die glatte Muskulatur oder die Neuronen der Darmwand oder auch beide Orte betrifft.

Bei den narkotisierten Tieren kam es zu einer Stimulierung der verschiedenen Abschnitte des Magen-Darm-Traktes durch Caeruletide. Es erwies sich allerdings als unmöglich, eine Aussage über den Grad der Empfindlichkeit der einzelnen Segmente hinsichtlich des Polypeptids zu machen. Beim narkotisierten Hund ist Caeruletide wahrscheinlich das Polypeptid, das den Tonus und die Motilität der Darmmuskulatur am meisten beeinflußt.

Die Lokalisation der Rezeptoren von Caeruletide ist wahr-

scheinlich unterschiedlich für die verschiedenen Abschnitte des Verdauungstraktes. Der Wirkungsmechanismus kann je nach der untersuchten Tiergattung unterschiedlich sein. Diese Wahrscheinlichkeit ergibt sich aus der Beobachtung unterschiedlicher Antworten auf eine Atropinvorbehandlung, eine Behandlung, die z.B. die Wirkung von Caeruletide auf die Gallenblase des Meerschweinchens oder auf den Rattenpylorus nicht beeinträchtigt, die jedoch erheblich die Polypeptidwirkung auf die ansae jejunales der Katze und des Hundes mindert (BERTACCINI 9).

Wenn Antworten eines bestimmten Abschnittes auf eine Atropinempfindlichkeit hindeuten, ist die Annahme gerechtfertigt, daß Caeruletide in diesem Sektor cholinergische Mechanismen in die eigene Wirkungsweise einbezieht (MANTOVANI 21).

In starkem Gegensatz zur ausgeprägten Steigerung der Darmmotiltät "in situ" durch Caeruletide, steht die geringe Empfindlichkeit isolierter Segmente des Darmrohres. In der Tat sind die verschiedenen isolierten Darmabschnitte relativ unempfindlich auf Caeruletide.

Das einzige natürliche Peptid, das einen Vergleich mit Caeruletide hinsichtlich seiner Wirksamkeit auf die glatte Muskulatur des Darmrohres und der Gallenwege aushält, ist das Cholezystokinin-Pankreozymin. Caeruletide entfaltet qualitativ gesehen die gleiche Wirkung wie dieses Duodenalhormon, quantitativ-molar übertrifft es jedoch dessen Wirkung. Vom Gewicht ausgehend ist Caeruletide zehnmal stärker als das Cholezystokinin-Pankreozymin bezüglich seiner Wirkung auf die Gallenblasenmuskulatur des narkotisierten Meerschweinchens; auf das Jejunum des Hundes wirkt es 13 - 20 mal und auf die Gallenblasenmotilität des wachen Hundes 47 mal stärker.

Was das Gastrin betrifft, das ja erheblich wirkungsärmer als das Cholezystokinin-Pankreozym hinsichtlich seines Einflusses auf den Magen-Darm-Trakt ist, so ist dies im Vergleich zu Caeruletide noch schwächer als das o.g. Duodenalhormon.

Aus den Untersuchungen von BERTACCINI u.a. (11) geht hervor, daß das menschliche Gastrin weniger als 0,1 % der Wirksamkeit von Caeruletide an der Gallenblase des Meerschweinchens und etwa 2 - 5 % der Caeruletidewirksamkeit auf die Magen- und Jejunummuskulatur des Hundes besitzt. Was den Mechanismus der Caeruletidestimulation im Darmbereich, besonders am Ileum und Colon betrifft, so gibt es hier interessante Untersuchungsergebnisse vom Meerschweinchen "in vivo" und "in vitro" von DEL TACCA M. u.a. (26), die diese Autoren zu der Schlußfolgerung führten, daß die Wirkung des Peptids fast vollständig neural übermittelt wird, da der Tetrodotexintest eine 90 %ige Inhibition der Stimulation bewirkte. Der Vermittlungssubstanz Acetylcholin, die von Caeruletide freigesetzt wird, kann jedoch nur zum Teil eine Rolle in diesem neural gesteuerten Stimulierungsprozess zugebilligt werden. Sehr wahrscheinlich setzt Caeruletide auch andere Übermittlungssubstanzen frei; aus den Untersuchungsergebnissen der o.g. Autoren geht hervor, daß es sich hier nicht um Serotonin oder Histamin handelt, obwohl eine sichere Identifikation dieser Substanzen nicht möglich war. Es fand sich, daß das Atropin die Reaktion des Ileums und des Colons auf Caeruletide abschwächen kann. Die kleinen durch Caeruletide hervorgerufenen Kontraktionen, die nach Tetrodotocingabe fortbestehen, können einer direkten Wirkungsweise von Caeruletide entweder auf die Nervenendigungen oder auf die Muskelzellen zugeschrieben werden. Ob "in vitro" oder "in vivo", verstärkt Caeruletide in hohem Maße die Anwort des nervus pelvicus auf elektrische Reize bei allen untersuchten Reizfrequenzen; es wirkt hingegen nicht bei Bradychinin- und Cholezystokininreizen; nach Meinung der Autoren wirkt Caeruletide im präsynaptischen Bereich ohne Stabilisierung der Muskelrezeptoren.

Klinische Pharmakologie:

Die stimulierende Wirkung von Caeruletide auf den Darmabschnitt wurde von BERTACCINI u.a. (11) auch an 42 freiwilligen Versuchspersonen untersucht. Der Versuch beinhaltete manometrische Messungen zur Beurteilung der Druckverhältnisse im Lumen bestimmter Duodenalabschnitte und Röntgenuntersuchungen, die eine Beobachtung des Caeruletideeffektes auf den gesamten Magen-Darm-Trakt zuließen.

Die Druckmessungen ergeben, daß das Peptid eine hemmende Wirkung auf die Motilität der oberen Duodenalhälfte ausübt und die Beweglichkeit des distalen Duodenalendes und des oberen Jejunalabschnittes stimuliert.

Das Peptid zeigte am Colon eine je nach Dosierung variable Wirkung.

1. Dehung der Haustren im Bereich des Colon ascendens und des ersten Abschnittes des Colon transversums mit anschließender Segmentation durch ringförmige Kontraktion und zwar vollständig im oberen Bereich und unvollständig im unteren;
2. Verlängerung der Kontraktion im oberen und Akzentuierung derselben im unteren Bereich bis zum Spasmus;
3. Erschlaffung im unteren Bereich und Füllung des Colon transversums.

Ziel der folgenden Untersuchung ist es, unter kontrollierten Bedingungen dieWirkung des Decapeptides Caeruletide auf die Darmmotorik nachzuweisen und mit den gebräuchlichen Cholinesterasehemmkörpern Neostigmin und Distigmin zu vergleichen.

PRAKTISCHER TEIL MIT EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

METHODIK

24 Kaninchen mit einem Gewicht von 2,5 bis 3,5 kg wurden mit 20 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital i.v. narkotisiert. Bei ausreichender Narkosetiefe wurde dann die Bauchdecke schichtweise eröffnet und eine Jejunumschlinge im Bereich des distalen Drittels aufgesucht. Hier wurde ca. 60 cm proximal der Ileocaecalklappe eine 1 cm lange Incision vorgenommen und in diese so geschaffene Darmöffnung ein starres Gummirohr mit einem Durchmesser von 1 cm und einer Länge von 15 cm ca. 3 - 4 cm weit eingeführt und durch Abbinden des Darmes über dem Gummirohr mit Hilfe eines dicken Fadens fixiert. 10 cm distal von dieser Stelle wurde das Darmlumen mittels einer Darmklemme dicht verschlossen.

In diesem, bei allen Versuchstieren gleich langen und nach beiden Seiten verschlossenen Darmabschnitt wurde Luft über das Gummirohr bis zu einem durchschnittlichen Intraluminaldruck von 50 ± 10 mm H_2O insuffliert. Nach Anschluß eines Simultanschreibers[1] an dieses Gummirohr konnten in diesem geschlossenen System die Druckschwankungen gemessen werden. Diese wurden dann durch Ausmessen der Amplituden im Kurvenbild des Simultanschreibers ermittelt.

Diese Messungen wurden in einem Zeitabschnitt von 30 bzw. 60 sec. durchgeführt. Über 5 Minuten hinweg wurden zunächst die Amplituden der peristaltischen Wellen ohne die Wirkung eines Medikamentes ermittelt. Hierbei wurde in den ersten 3 Minuten in 60 sec. Abstand, dann 2 Minuten lang in 30 sec. Abstand gemessen.

Darauf wurden

sechs Versuchstieren 2 ml NaCl 0,9 % (O-Gruppe)
sechs Versuchstieren 0,007 mg/kg KG Neostigmin
fünf Versuchstieren 0,007 mg/kg KG Distigmin und
sieben Versuchstieren 0,1 ug/kg KG Caeruletide

innerhalb von 15 - 25 sec. intravenös injiziert.

---

1 Vagorec 4, Rickadenki Tokio und Ing. Dr. Straumann

Dann wurde 6 Minuten lang in 30 sec. Abstand die Änderung der Amplituden der peristaltischen Wellen ausgemessen und danach weiterhin alle 60 sec. abgelesen.

Entscheidend für die Auswertung waren die Messwerte kurz vor und kurz nach der Applikation des entsprechenden Präparates.

Im oben beschriebenen Versuchsmodell wurden jeweils die Änderungen der peristaltischen Wellen in den verschiedenen Gruppen miteinander verglichen. Nur diese Amplitudenänderungen waren allein die Parameter zum Vergleich der Wirksamkeit und der Wirkungsintensität der verschiedenen zu untersuchenden Substanzen.

MESSDATEN UND ABLAUF DER VERSUCHSGRUPPEN:

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden in vier Gruppen unterteilt. Diese ergaben sich durch den Vergleich der Wirkung von Caeruletide mit Neostigmin und Distigmin. Die erste Gruppe wurde als 0-Gruppe mit NaCl 0,9 % durchgeführt.

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, daß als Parameter zum Vergleich der Wirksamkeit bzw. der Wirkungsintensität allein die Amplitudenhöhe der peristaltischen Wellen herangezogen wird und keine absoluten Werte oder Intraluminaldrucke quantitativ gemessen werden können. Diese Absolutmessung ist mit obiger Methodik nicht möglich.

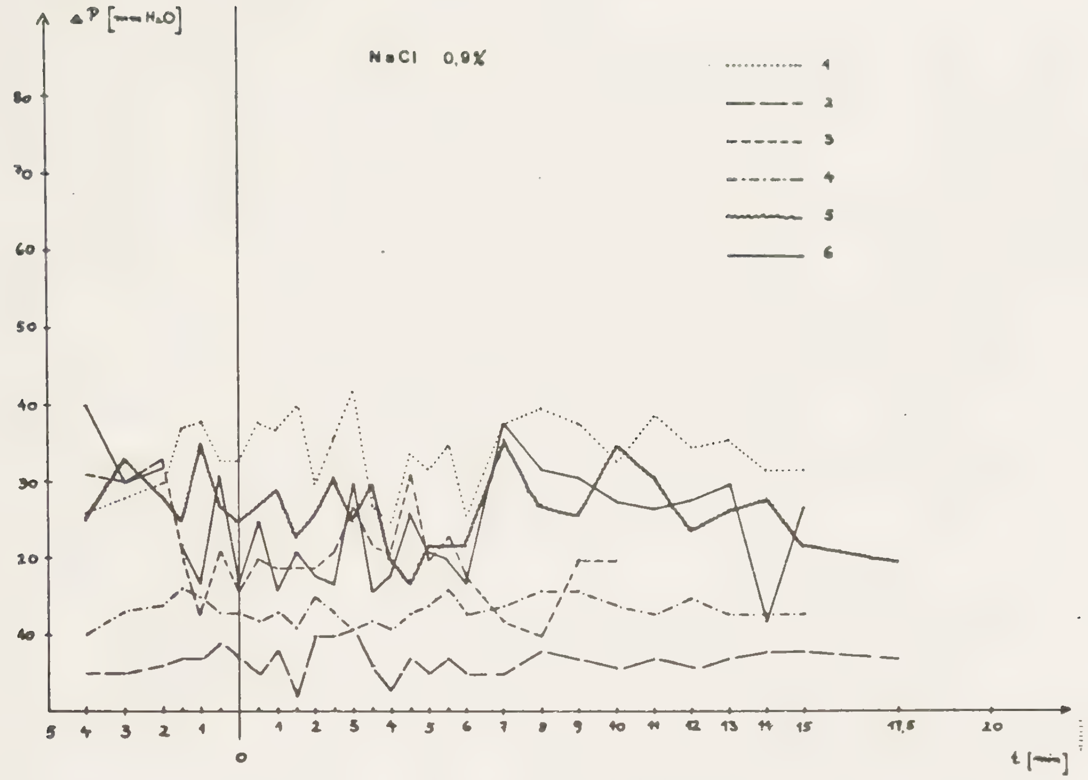
1. GRUPPE: 0-GRUPPE

Um eine Vergleichsschreibung mit einem nachgewiesen unwirksamen Medikament zu erhalten, wurden sechs Kaninchen unter gleichen Versuchsbedingungen (s. Methodik) 2 ml NaCl 0,9 % i.v. injiziert.

Die Versuchstiere zeigten z.T. verschiedene Amplitudenhöhen ihrer Ruheperistaltik. Nach fünfminütiger Ruheschreibung wurden nach Applikation von 2 ml NaCl 0,9 % keine signifikanten Änderungen der Amplitudenhöhen der peristaltischen Wellen gesehen; es konnten lediglich leichte Schwankungen der Ruheperistaltik beschrieben werden, die als physiologisch zu betrachten sind.

Zusammenfassung:

Mit 2 ml NaCl 0,9 % ließ sich keine signifikante Peristaltikerhöhung erzielen.


ΔP [mm H₂O]
NaCl 0,9%
1
2
3
4
5
6
80
70
60
50
40
30
20
10
5 4 3 2 1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 17,5 20
t [min]

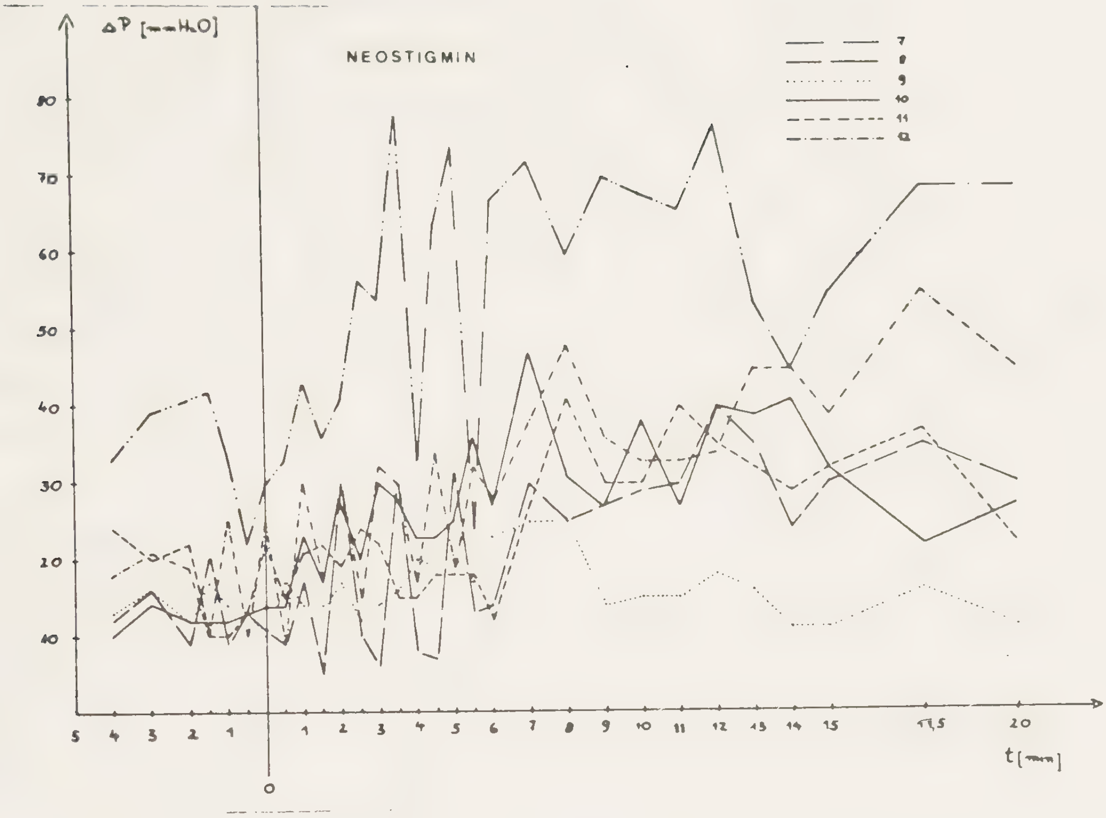
2. GRUPPE: NEOSTIGMIN (Prostigmin®)

Die Versuche wurden an sechs Kaninchen vorgenommen. Bei einer Dosierung von 0,007 mg/kg Körpergewicht konnte mit Neostigmin (Prostigmin) bereits in den ersten zwei Minuten nach Applikation ein Anstieg der Amplitudenhöhen der peristaltischen Wellen um im Durchschnitt 33,3 % gegenüber dem Maximum des fünfminütigen Vorlaufs nachgewiesen werden (für Distigmin wurde zwischen der 3. und 4. Minute eine durchschnittliche Amplitudenzunahme von 10 % erreicht). Die maximale Amplitudenzunahme betrug 8 - 12 Minuten nach Applikation im Durchschnitt 95,2 % (Distigmin: durchschnittliche max. Amplitudenzunahme 10 % zwischen der 3. und 4. sowie 13. und 14. Minute).

Hier zeigt sich schon die unterschiedliche Wirkungsintensität zwischen den beiden zu untersuchenden Cholinesterasehemmkörpern. Neostigmin zeigt einen wesentlich schnelleren Wirkungseintritt; das Maximum ist im Durchschnitt nach 8 - 13 Minuten erreicht. Die Maximalwerte unterscheiden sich ebenfalls erheblich von den mit Distigmin gemessenen Werten.

Zusammenfassung:

Neostigmin zeigte gegenüber der O-Gruppe mit NaCl 0,9 % einen signifikanten raschen Anstieg der Amplitudenhöhen der peristaltischen Wellen, die schon nach 8 - 13 Minuten ihr Maximum erreichten.

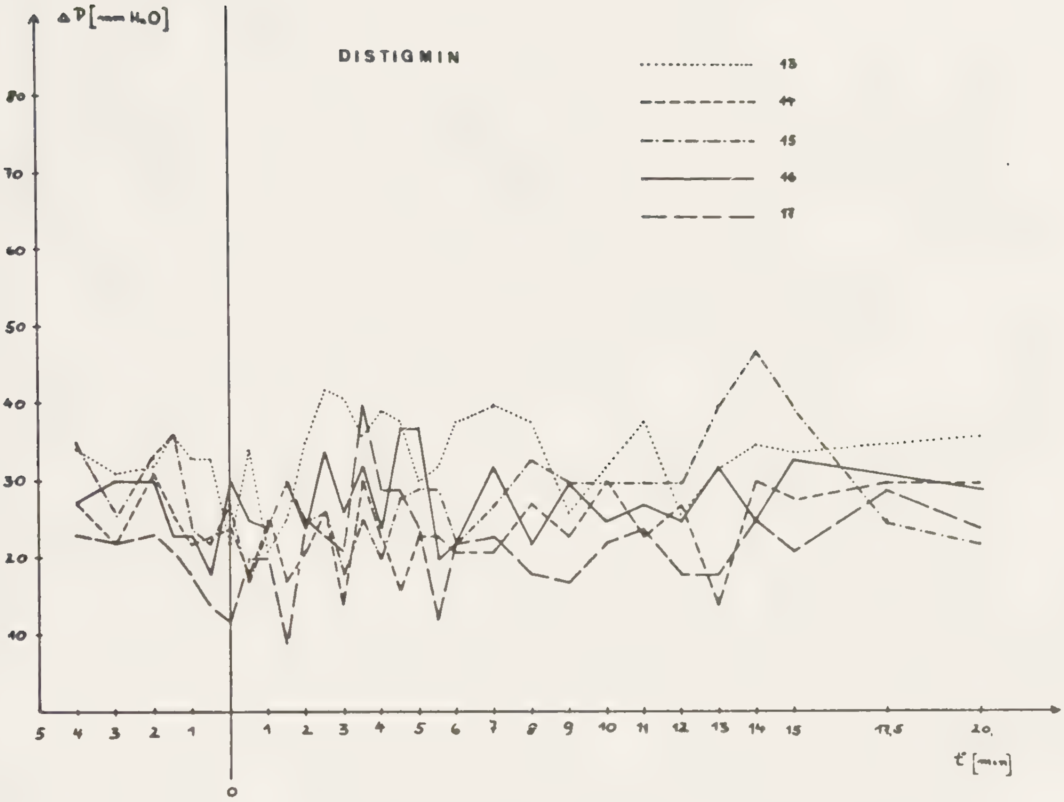

ΔP [mmH2O]
NEOSTIGMIN
7
8
9
10
11
12
80
70
60
50
40
30
20
10
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
17,5
20
t [min]

3. GRUPPE: DISTIGMIN (Ubretid[R])

Die Versuche wurden an fünf Kaninchen vorgenommen. Bei einer Dosierung von 0,007 mg/kg Körpergewicht konnte mit Distigmin innerhalb der Versuchsdauer von 20 Minuten keine wesentliche Erhöhung der Amplituden der peristaltischen Wellen erreicht werden. Lediglich wurde zwischen der 3. und 4. Minute nach Medikamentengabe im Durchschnitt für alle fünf Versuchstiere eine Amplitudenzunahme von 10 % erreicht, die nur noch einmal zwischen der 13. und 14. Minute gemessen wurde. Die Amplitudenzunahme lag bei den einzelnen Versuchstieren zwischen 0 % und 73,9 % als Maximum.

Zusammenfassung:

Mit Distigmin waren die Peristaltikerhöhungen, die wir unter Neostigmin beobachtet hatten, nicht erreicht worden. Dies war wahrscheinlich auf den Depotcharakter des Präparates Distigmin zurückzuführen, was auch aus den Untersuchungen von KRAUPP (18) und HERZFELD (17) hervorging.


ΔP [mm H2O]
DISTIGMIN
13
14
15
16
17
80
70
60
50
40
30
20
10
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
17,5
20.
t [min]

4. GRUPPE: CAERULETIDE

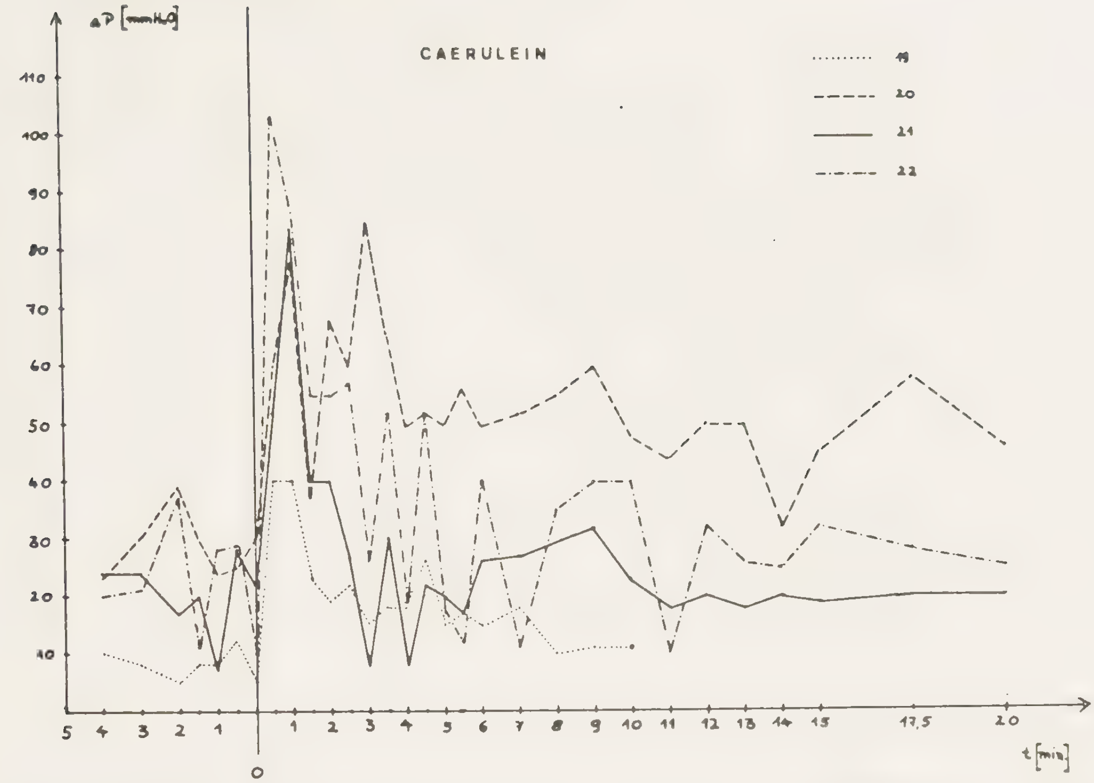
Die Versuche mit 0,1 µg/kg Körpergewicht Caeruletide wurden an sieben Kaninchen mit einem Gewicht von je 2 - 3 kg nach gleicher Methode durchgeführt.

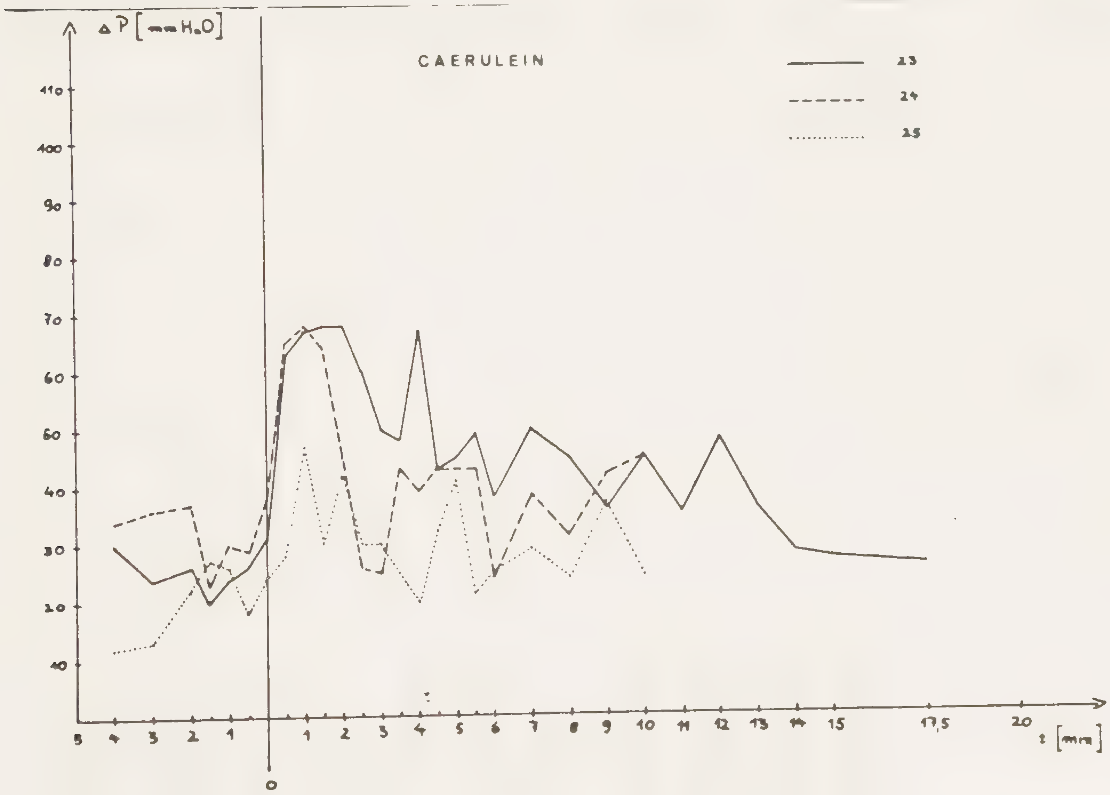
Die Messungen ergaben an allen Versuchstieren einen erheblichen Anstieg der Amplituden der peristaltischen Wellen innerhalb einer Minute nach Medikamentengabe. Im Durchschnitt wurde eine Amplitudenerhöhung von 157,6 % zwischen Vorlauf und Wirkungsmaximum erreicht, das bei jedem Versuchstier innerhalb der ersten Minute nach Applikation lag (maximale Amplitudenerhöhung 233,3 %). Dieses Maximum wurde innerhalb der Versuchsdauer von 2o Minuten nicht wieder erreicht; es wurde eine kontinuierliche Amplitudenabnahme gemessen. Nach 15 Minuten Wirkungsdauer war eine Zunahme der Amplitudenhöhe der peristaltischen Wellen nicht oder nur ganz gering im Vergleich zum 5-minütigen Vorlauf meßbar.

Bei allen Versuchen mit Caeruletide fiel immer der schnelle Wirkungseintritt (das Maximum wurde innerhalb einer Minute nach Applikation erreicht) und die starke Amplitudenerhöhung der peristaltischen Wellen auf; ferner zeigte sich bei allen Versuchstieren ein schneller Rückgang der Wirkung von Caeruletide, nach 20 Minuten war keine Amplitudenerhöhung im Vergleich zum Vorlauf mehr meßbar.

Zusammenfassung:

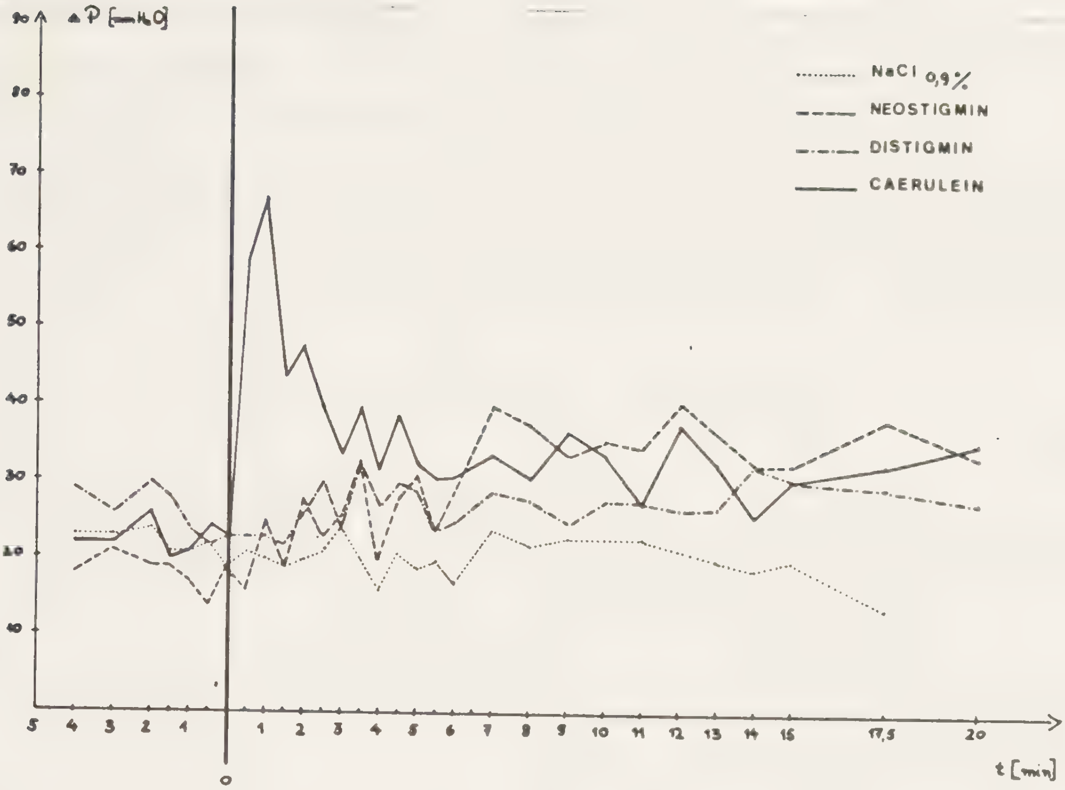
Caeruletide erhöhte die Darmperistaltik im Versuchsmodell signifikant am stärksten. Die Amplitudenhöhen wurden weder von Neostigmin noch von Distigmin erreicht. Auffallend war auch der schnelle Rückgang der Wirkung von Caeruletide. Nach Ablauf der Versuchsdauer von 20 Minuten war eine Peristaltikerhöhung kaum noch feststellbar.



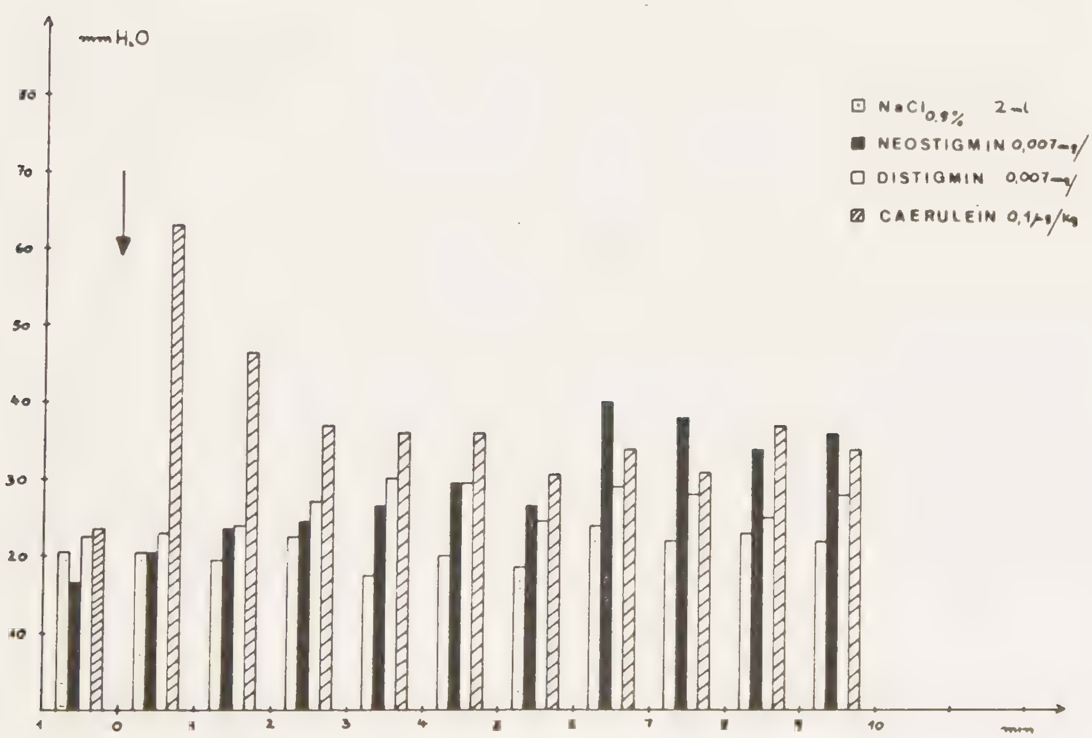


Caerulein = Caeruletide INN

Grunpenvergleich:



Caerulein = Caeruletide INN



STATISTIK:

Um die beiden untersuchten Cholinesterasehemmkörper Neostigmin und Distigmin mit Caeruletide zu vergleichen und einer 0-Gruppe mit 2 ml NaCl 0,9 % gegenüberzustellen, wurden alle Versuchsergebnisse statistisch ausgewertet.

Die statistische Auswertung wurde im Institut für medizinische Statistik und Dokumentation (Prof. Dr. Edward Walter) der Universität Freiburg mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung durchgeführt.

Die Meßdaten wurden in zwei Serien ausgewertet:

1. Serie:
(Kurzzeitwirkung) (vor- nach kurz)

2 Minuten vor Applikation
(Meßdaten in 0,5 minütigen Abständen = 4 Werte)

2 Minuten nach Applikation d. Medik.
(Meßdaten in 0,5 minütigen Abständen = 4 Werte)

2. Serie:
(Langzeitwirkung) (vor- nach lang)

2 Minuten vor Applikation
(Meßdaten in 0,5 minütigen Abständen = 4 Werte)

2.-6. Minute nach Applikation d. Medik.
(Meßdaten in 0,5 minütigen Abständen = 8 Werte)

In der Zeit von 2 Minuten vor und 6 Minuten nach Applikation des jeweiligen Medikamentes wurde in Zeitabständen von 0,5 Minuten gemessen. So ergaben sich 4 Meßwerte vor und 12 Meßwerte nach Applikation.

Es wurden nun jeweils für die 1. Serie (Kurzzeitwirkung) die 4 Meßwerte vor und die 4 Werte nach Applikation gemittelt; aus diesen zwei Mittelwerten wurde jeweils die Differenz errechnet. Genauso verfahren wurde mit der 2. Serie (Langzeitwirkung); berechnet wurden hier die Differenzen des Mittelwertes der 4 Meßdaten vor und des Mittelwertes der 8 Meßdaten im Zeitraum von 2-6 Minuten nach Applikation.

Demzufolge ergab sich für jedes Versuchstier eine Differenz der Mittelwerte für die Kurzzeitwirkung (2 Minuten vor - 2 Minuten nach) und eine weitere Differenz der Mittelwerte für die Langzeitwirkung (2 Minuten vor - 2.-6. Minute nach) (s. Tab.1).

Diese zwei Differenzen pro Versuchstier bildeten die Grundlage für folgende Berechnung:

Für Serie 1 (Kurzzeitwirkung)

Diese Differenzen wurden für jede der Versuchsgruppen gemittelt. Aus diesem Mittelwert ($\bar{x}$) wurde für jede Versuchsgruppe die Varianz (S^2) nach folgender Formel berechnet:

$$S^2 = \frac{\sum (x_1 - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Daraus wurde dann die Standardabweichung (S) = $\sqrt{S^2}$ ermittelt.

Mit Hilfe des paarigen T-Tests wurde berechnet, ob die mittlere Differenz der Meßdaten innerhalb einer Versuchsgruppe signifikant von 0 verschieden ist. Die jeweiligen Ergebnisse wurden wie folgt eingeordnet:

= schwach signifikant ($P \leq 5$ %)

Irrtumswahrscheinlichkeit = P (s.Tab.2)

= signifikant ($P \leq 1$ %)

= hoch signifikant ($P \leq 0{,}1$ %)

Um nun die Meßergebnisse der vier Versuchsgruppen untereinander zu vergleichen, wurden die oben errechneten Differenzmittelwerte zweier miteinander verglichener Gruppen subtrahiert. Zur Signifikanzberechnung wurde der Test nach Scheffé verwendet; er sollte Aufschluß geben über die Unterschiede zwischen den Meßergebnissen der vier Versuchsgruppen. Dieser Vergleich ergab demzufolge 6 Vergleichspaarungen (s.Tab.4).

Für Serie 2 (Langzeitwirkung):

Dieselbe Berechnung wurde auch mit den Meßergebnissen im Langzeitbereich (2 Minuten vor und 2.-6. Minute nach Applikation) durchgeführt (s.Tab. 3+5).

Durchführung der statistischen Berechnung:

1. Tabelle der Differenzen der Mittelwerte (berechnet auf Grund der Meßdaten)

Lfd. Nr.	Grup. Nr.	Tier Nr.	Differenz d. Mittelwerte vor - nach (kurz)	Differenz d.Mittelwerte vor - nach (lang)
1	1	1	- 1,00	+ 3,13
2	1	2	+ 1,25	+ 0,63
3	1	3	- 1,50	- 5,12
4	1	4	+ 1,50	+ 1,37
5	1	5	+ 1,75	+ 4,38
6	1	6	+ 1,75	+ 1,12
7	2	7	- 6,00	- 24,25
8	2	8	- 2,00	- 1,62
9	2	9	- 2,00	- 4,12
10	2	10	- 7,75	- 13,75
11	2	11	- 5,50	- 4,00
12	2	12	- 4,00	- 8,37
13	3	13	+ 2,25	- 6,00
14	3	14	+ 3,50	+ 1,75
15	3	15	+ 3,00	+ 2,62
16	3	16	- 2,25	- 5,50
17	3	17	- 2,25	- 8,75
18	4	19	- 22,25	- 10,12
19	4	20	- 33,50	- 31,37
20	4	21	- 34,75	- 0,50
21	4	22	- 55,75	- 15,00
22	4	23	- 41,25	- 24,75
23	4	24	- 30,50	- 5,75
24	4	25	- 13,00	- 4,25

Gruppe Nr. 1 = 0-Gruppe mit NaCl 0,9 %
Gruppe Nr. 2 = Neostigmin
Gruppe Nr. 3 = Distigmin
Gruppe Nr. 4 = Caeruletide

Niedrige Differenzwerte = geringe Änderung der Amplitudenhöhen
Hohe Differenzwerte = starke Änderung der peristaltischen Wellen

\+ = Wirkungsabfall
\- = Wirkungsanstieg

2. Tabelle der Berechnung der Kurzzeitwirkung (vor - nach kurz)

Versuchs-gruppe Nr.	Anz.d. Tiere	Summe d. Diff.	Mittel-wert	Varianz	Standard-abweichung	paariger T-Test
1	6	3,75	0,625	2,169	1,4726676	1,040-
2	6	-27,5	-4,583	5,467	2,3380904	-4,802 **
3	5	4,25	0,850	8,206	2,8646553	0,663-
4	7	-231,00	-33,00	185,125	13,606065	-6,417 ***

3. Tabelle der Berechnung der Langzeitwirkung (vor - nach lang)

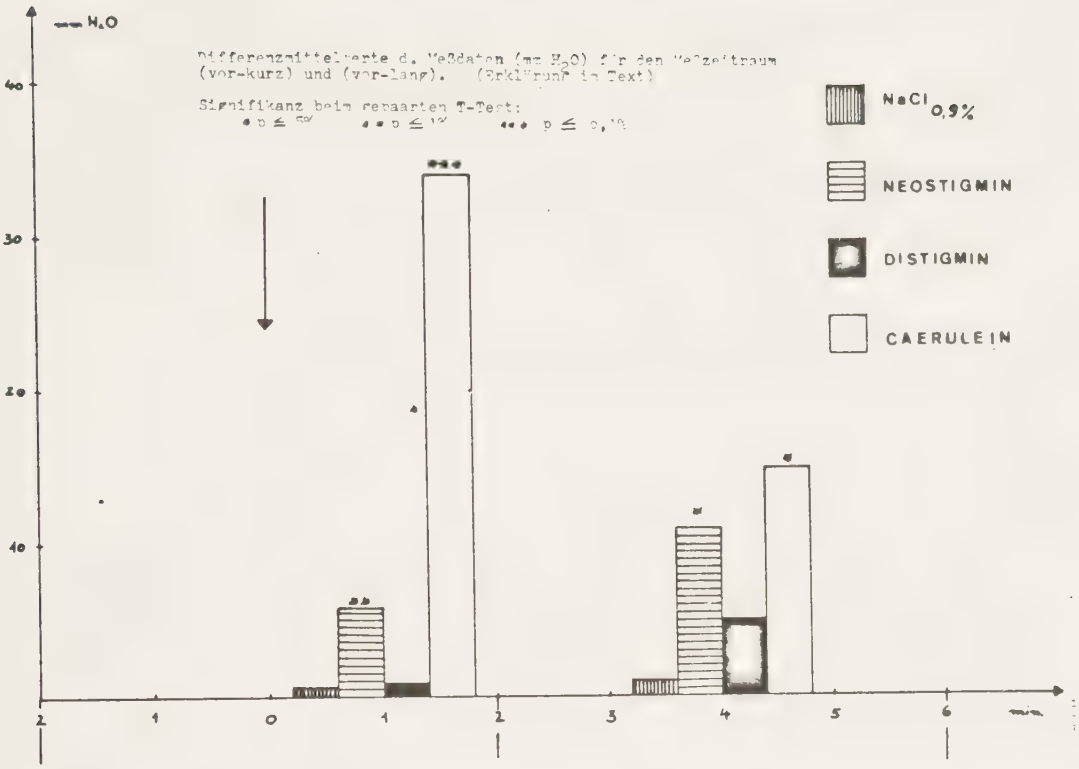
1	6	5,509	0,918	10,733	3,276091	0,687-
2	6	-56,110	-9,352	71,611	8,4623719	-2,707 *
3	5	-15,88	-3,176	25,576	5,0572848	-1,404-
4	7	-91,74	-13,106	128,851	11,351289	-3,055 *

4. Tabelle: Gruppenvergleich - Kurzzeitwirkung (vor - nach kurz)

Gruppenpaarung	Diff. d. Gruppenmittelwertes	Scheffé Test
1 - 2	5,208333	0,459 -
1 - 3	-0,2249999	0,001 -
1 - 4	33,625000	20,607 ***
2 - 3	-5,43333	0,454 -
2 - 4	28,416667	14,718 ***
3 - 4	33,85000	18,853 ***

5. Tabelle: Gruppenvergleich - Langzeitwirkung (vor - nach lang)

1 - 2	10,27000	1,639 -
1 - 3	4,09433	0,237 -
1 - 4	14,02404	3,291 *
2 - 3	-6,17566	0,539 -
2 - 4	3,75404	0,236 -
3 - 4	9,92971	1,490 -



Caerulein = Caeruletide INN

Aus der statistischen Auswertung ließ sich gut die unterschiedliche Wirkung von Caeruletide gegenüber der Wirkung der beiden Cholinesterasehemmkörper Neostigmin und Distigmin erkennen. Caeruletide zeigte im Kurzzeitbereich (2 Minuten vor - 2 Minuten nach Applikation) einen hoch signifikanten Unterschied gegenüber dem Vorlauf (s. Tabelle 2). Lediglich Neostigmin konnte im Kurzzeitbereich eine Signifikanz vorweisen.

Auch im Langzeitbereich war für Caeruletide noch eine Signifikanz nachzuweisen, die sogar jene von Neostigmin noch gering übertraf.

Distigmin zeigte keine signifikanten Unterschiede (s.Tab.3+2).

Im Gruppenvergleich innerhalb des Kurzzeitraumes bis 2 Minuten nach Applikation wies jeweils die Paarung mit Gruppe 4 (Caeruletide) eine hohe Signifikanz auf; wohingegen die anderen drei Gruppen untereinander nur geringe Unterschiede zeigten (s. Tabelle 4).

Im Gruppenvergleich innerhalb des Langzeitraumes (2.-6. Minute nach Applikation) konnte der steile Wirkungsabfall von Caeruletide nachgewiesen werden; lediglich der Vergleich mit der O-Gruppe zeigte eine geringe Signifikanz.

Auch hier zeigten die anderen drei Gruppen untereinander keine signifikanten Unterschiede (s. Tabelle 5).

DISKUSSION:

Das dem menschlichen Gastrin sehr ähnliche Decapeptid Caeruletide hat eine sehr starke stimulierende Wirkung auf die Muskulatur des Gastrointestinaltraktes "in situ" der verschiedenen bisher untersuchten Tiergattungen (BERTACCINI 9, BERTACCINI 10, MANTOVANI 21, AGOSTI 2). Dies konnte auch von uns beim frischen mechanischen Ileus des Kaninchens in obiger Versuchsanordnung bestätigt werden.

Die mit Caeruletide hinsichtlich ihrer Wirkungsintensität verglichenen Cholinesterasehemmkörper Neostigmin und Distigmin sind in ihrer Wirkungsweise bekannt, konnten jedoch nicht annähernd die gleiche Motilitätssteigerung im untersuchten Zeitintervall erreichen. Das neuartige Caeruletide, dessen Wirkungsmechanismus noch nicht hinreichend geklärt ist (Acetylcholinfreisetzung aber auch direkte Wirkung auf Nervenendigungen oder Muskelzellen (DEL TACCA 26), zeigte innerhalb des Versuchszeitraumes eine sehr rasch eintretende und wesentlich stärkere Motilitätssteigerung am Jejunum des Kaninchens. Da die Wirkung von Caeruletide im untersuchten Zeitraum nahezu wieder auf die Ausgangswerte zurückging, die untersuchten Cholinesterasehemmkörper aber einen wesentlich langsameren Wirkungseintritt und auch geringere Wirkungsintensität zeigten (HAMAGHUCHI 16, KRAUPP 18, HERZFELD 17), ließ sich ein optimaler Vergleich im untersuchten Zeitraum nicht anstellen.

Caeruletide, das auch heute schon erfolgreich in der Diagnostik und Therapie (BERTACCINI 18, ERSPARMER 14) seine Anwendung findet, eignet sich durch seine hohe Wirkungsintensität und raschen Wirkungseintritt am Dünn- und Dickdarm zur Behandlung von Darmatonien, besonders die des paralytischen Ileus (BERTACCINI 12, ERSPARMER 14). Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen und weitere Ergebnisse bleiben abzuwarten. Trotz der vielen Vorteile dieses neuen Präparates werden die herkömmlichen Cholinesterasehemmkörper, die ihre Wirksamkeit auf die Darmmotilität hinreichend bewiesen haben (HAMAGUCHI 16, KRAUPP 18, HERZFELD 17) weiterhin ihre therapeutische Anwendung finden.

ZUSAMMENFASSUNG:

In einem mechanischen Ileusmodell wurde am Kaninchen die Wirkung von Caeruletide mit den Wirkungen von Neostigmin und Distigmin auf die jejunale Motorik im Zeitraum von 20 Minuten nach Applikation untersucht. Durch Caeruletide ist eine schnelle hoch signifikante Steigerung der Amplitudenhöhen der peristaltischen Druckwellen möglich.

Neostigmin zeigt signifikante, Distigmin keine signifikanten Steigerungen.

LITERATUR

1. ABDERHALDEN R.: Med. Terminologie, Wörterbuch der gesamten Medizin und der verwandten Wissenschaften. Benno Schwabe & Co., Basel 1948.

2. AGOSTI A., ZANETTI G.: Azione colecistocinetica della caeruleina nel cane. Boll. Soc. ital. Biol. sper. 45, 297-3oo (1968).

3. ANASTASI A., ERSPARMER V., ENDEAN R.: Isolation and amino acid sequence of caerulein, the active decapeptide of the skin of Hyla caerulea. Arch. Biochem. 125, 57-68 (1968).

4. ANASTASI A., ERSPARMER V., ENDEAN R.: Isolation and structure of caerulein, an active endecapeptide from the skin of Hyla caerulea. Experientia 23, 699-7oo (1967).

5. ANASTASI A., ERSPARMER V., ENDEAN R.: Isolation and structure of caerulein. Pharmacology of Hormonal Polipeptides and Proteins. Plenum Press, 1968, pag. 527-532.

6. BERGMANN F., SHIMONI A.: Quarternary Ammonium salts as inhibitors of ACh-esterase. Biochim. biophys. Acta 8, 52o-525 (1952).

7. BERNARDI L., BOSISIO G., DE CASTIGLIONE R., GOFFREDO O.: Synthesis of caerulein. Experientia 23, 7oo-7o1 (1969).

8. BERNARDI L., BOSISIO G., DE CASTIGLIONE R., GOFFREDO O.: The synthesis of caerulein. Pharmacology of Hormonal Polypeptides and Proteins. Plenum Press. 1968, pag. 32-34.

9. BERTACCINI G., DE CARO G., ENDEAN R., ERSPARMER V., IMPICCIATORE M.: The action of caerulein on the smoth muscle of the gastrointestinal tract and gall bladder. Brit. J. Pharmacol. 31, 298-31o (1968).

1o. BERTACCINI G., ENDEAN R., ERSPARMER V., IMPICCIATORE M.: The actions of caerulein on gastric secretion on the dog and rat. Brit. J. Pharmacol. 34, 311-329 (1968).

11. BERTACCINI G., AGOSTI A.: Gastroenterol. Seminar, Bellagio, 197o. Gastroenterology (197o).

12. BERTACCINI G., AGOSTI A., PUCCININ G. L.: Farmacologia-Milano, Oktober 1969.

13. DE CARO G., ENDEAN R., ERSPARMER V., ROSEGHINI M.: Occurrence of caerulein in extracts of the skin of Hyla caerulea and other Australian Bylids. J. Pharmacol. 33, 48-58 (1968).

14. ERSPARMER V.: Gut 11, 7o-87 (197o).

15. GALEHR O., PLATTNER F.: Über das Schicksal des ACh im Blute. Arch. ges. Physiol. 218, 488-5o5 (1927).

16. HAMAGUCHI E.: Der Einfluß der intravenösen Injektion von Prostigmin, Kochsalz- und Traubenzuckerlösungen auf die Motilität des Darmes. Experimentelle Untersuchungen. Arch. klin. Chir. 2o1, 5o-82 (1941).

17. HERZFELD E.,KRAUPP O., PATEINSKY K., STUMPF CH.: Pharmakologische und klinische Wirkungen des ChE-Hemmkörpers Hexamethylen-bis-(N-methyl-carbaminoyl-1-methyl-3-oxypyridiniumbromid) (BC 51). Wien. Klin. Wschr. 69, 245-248 (1957).

18. KRAUPP O., STUMPF CH., HERZFELD E., PILLAT B.: Pharmakologische Eigenschaften einiger langwirksamer ChE-Hemmkörper aus der Reihe der Polymethylen-bis-(Carbaminoyl-n-Trimethylammoniumphenole). Arch. int. Pharmacodyn. 1o2, 281-3o3 (1955).

19. KUSCHINSKY G.: Pharmakologie. 115, (1972).

2o. LOEWI O., NAVRATIL E.: Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung. Über das Schicksal des Vagusstoffes. Arch. ges. Physiol. 214, 678-696 (1926).

21. MANTOVANI P., PUCCININ G. L., BERTACCINI G.: Activity ratio between intestinal and cardiovascular actions of caerulein and related substances in the anesthetized dog. Pharmacol. Res. Comm. 1, 172-174 (1969).

22. MENDEL B., RUDNEY H.: Studies on ChE. Biochem. J. 37, 59-63 (1943).

23. MESSINI M., GROSSI F.: Sintesi generale sulla terapia delle insufficienze digestive. Atti XV Giornate Mediche di Montecatini, 9.-1o. maggio 197o. Ed. Lischi, pag. 463-511.

24. NAVRATIL E.: Die Schauta'sche Operation. Arch. Gynäk. 186, 394-4o7 (1955).

25. STUMPF CH.: Anticholinesterasen. Subsidia Medica 6, 2o1-211 (1954).

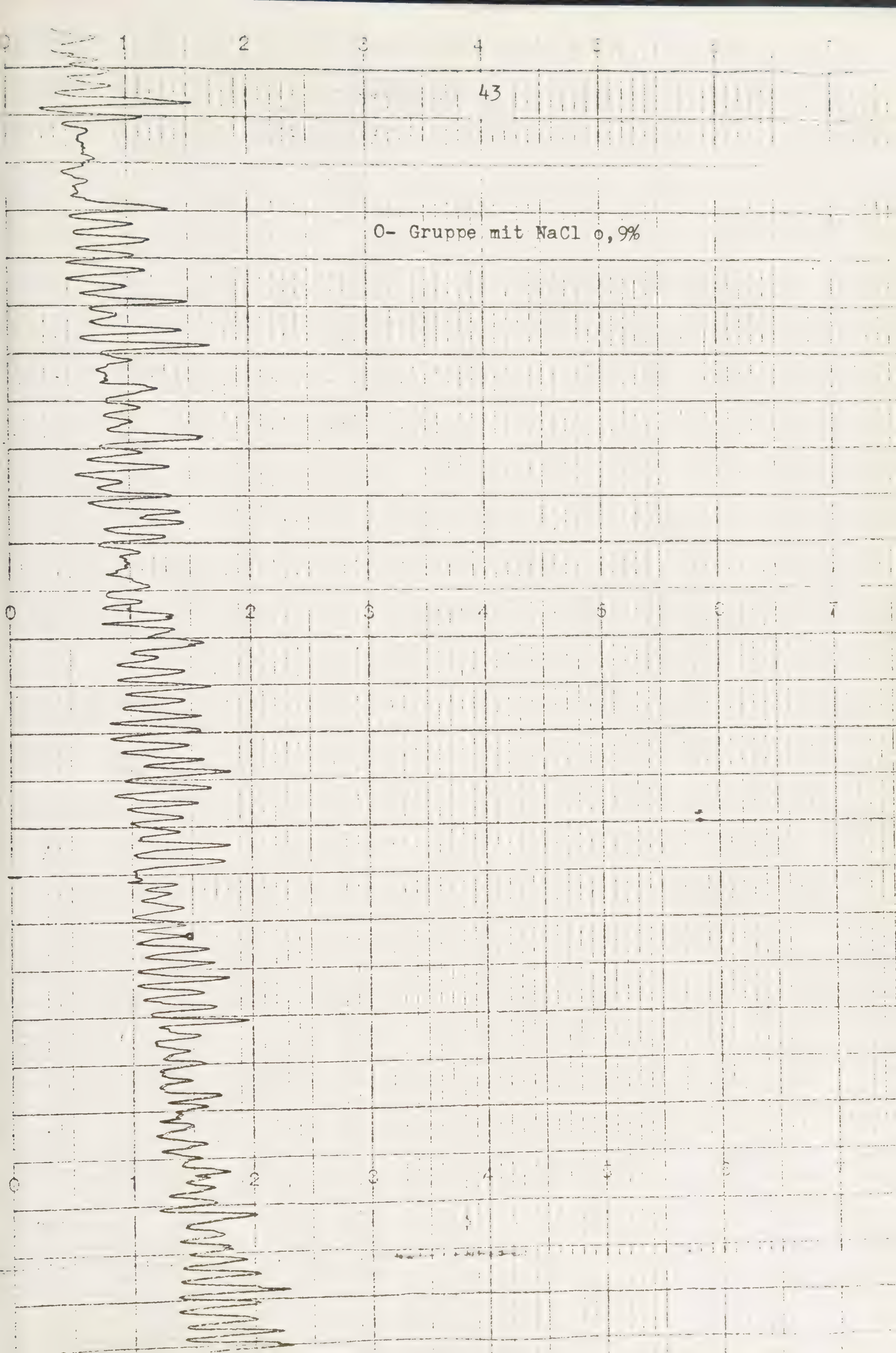
26. DEL TACCA M., SOLDANI G., CREMA A.: Experiments on the mechanism of action of caerulein at the level of the Guinea-pig ileum and colon. Agents Actions 1, 176-182 (197o).

27. VAUGHAN WILLIAMS E. M.: Pharmacol. Rev. 6, 159 (1954).

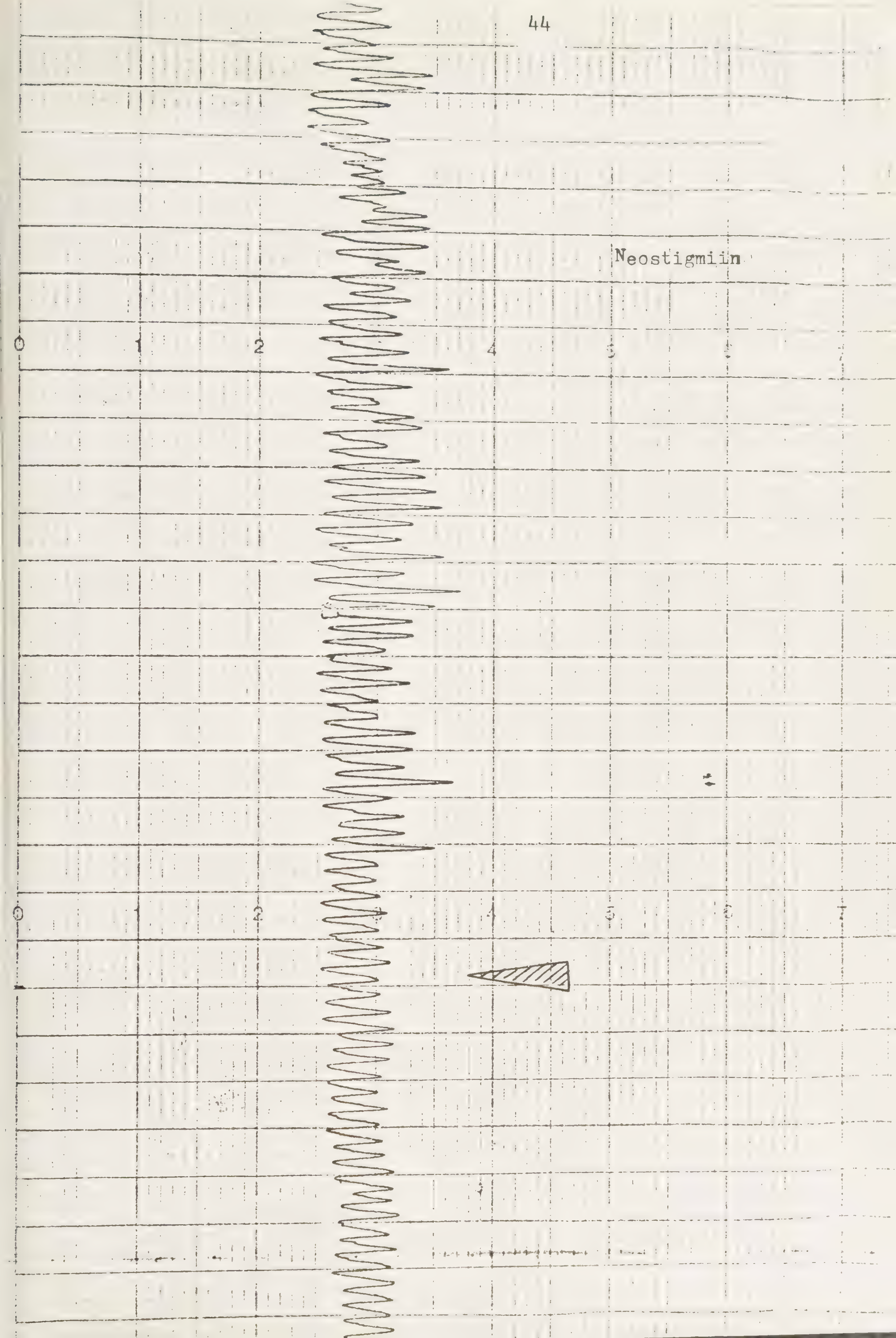
28. VOLKMANN H.: Med. Terminologie, 32. Auflage. Urban & Schwarzenberg, Berlin - Wien 1944.

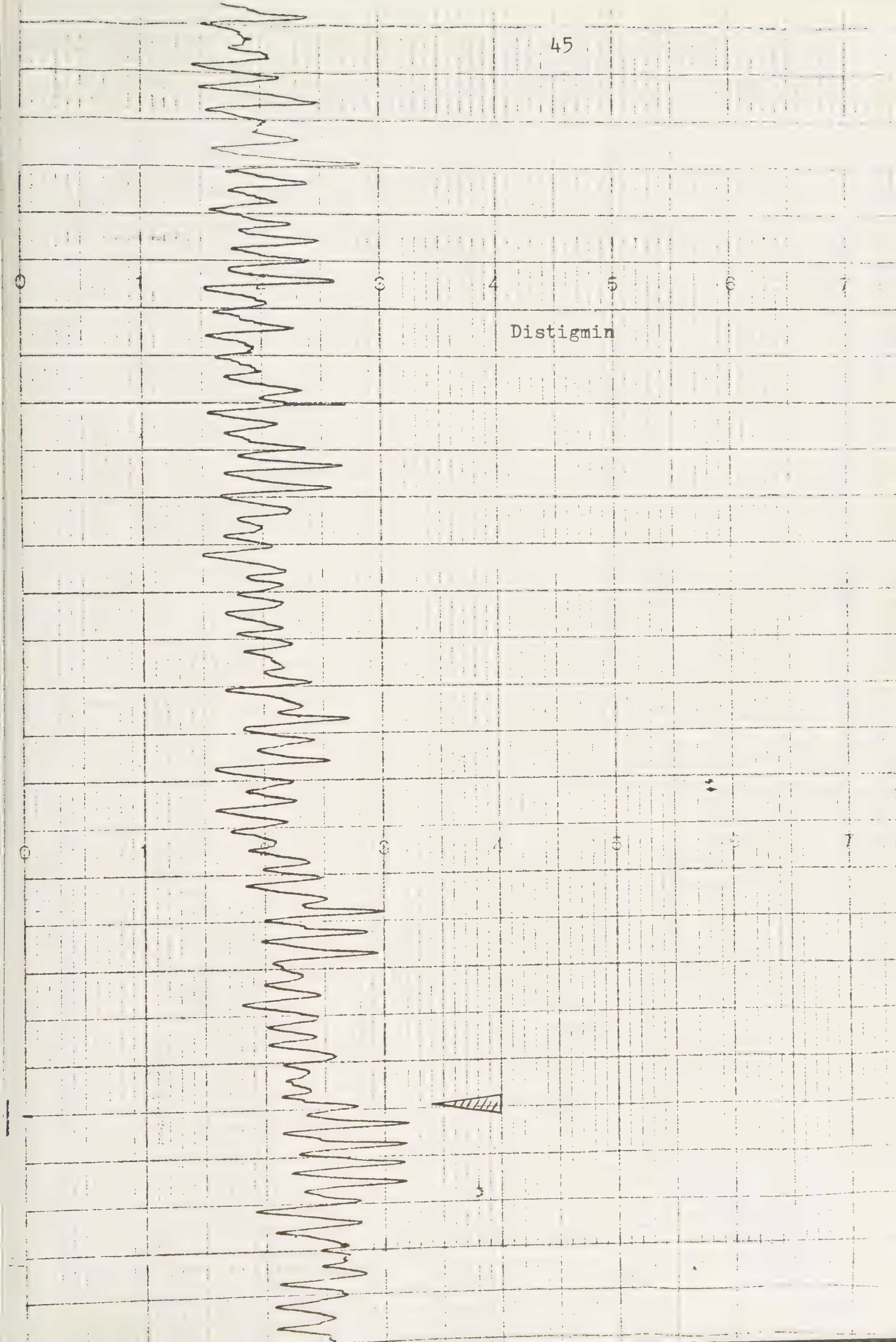
A N H A N G

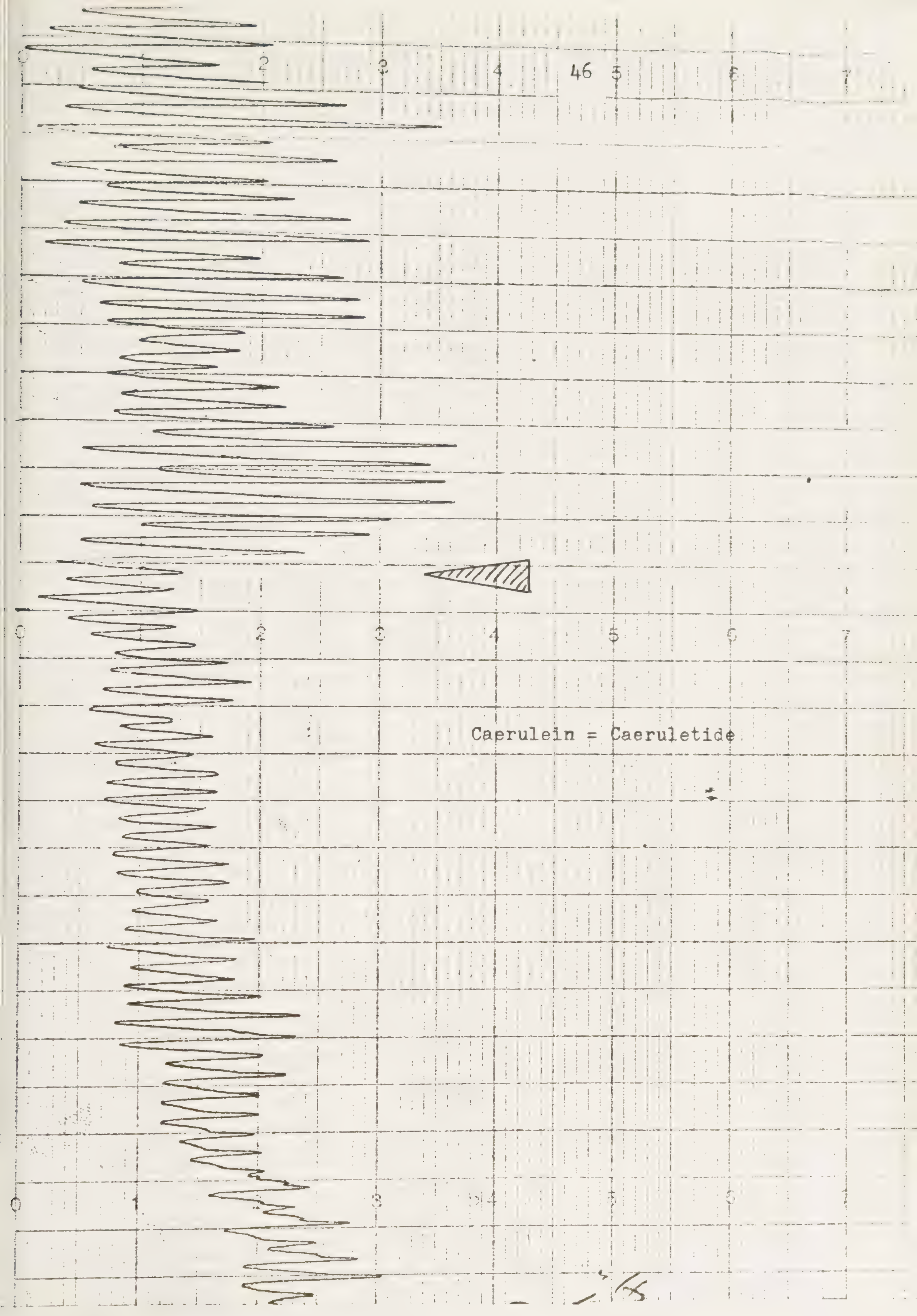
Meßdaten, Tabellen und Kurven

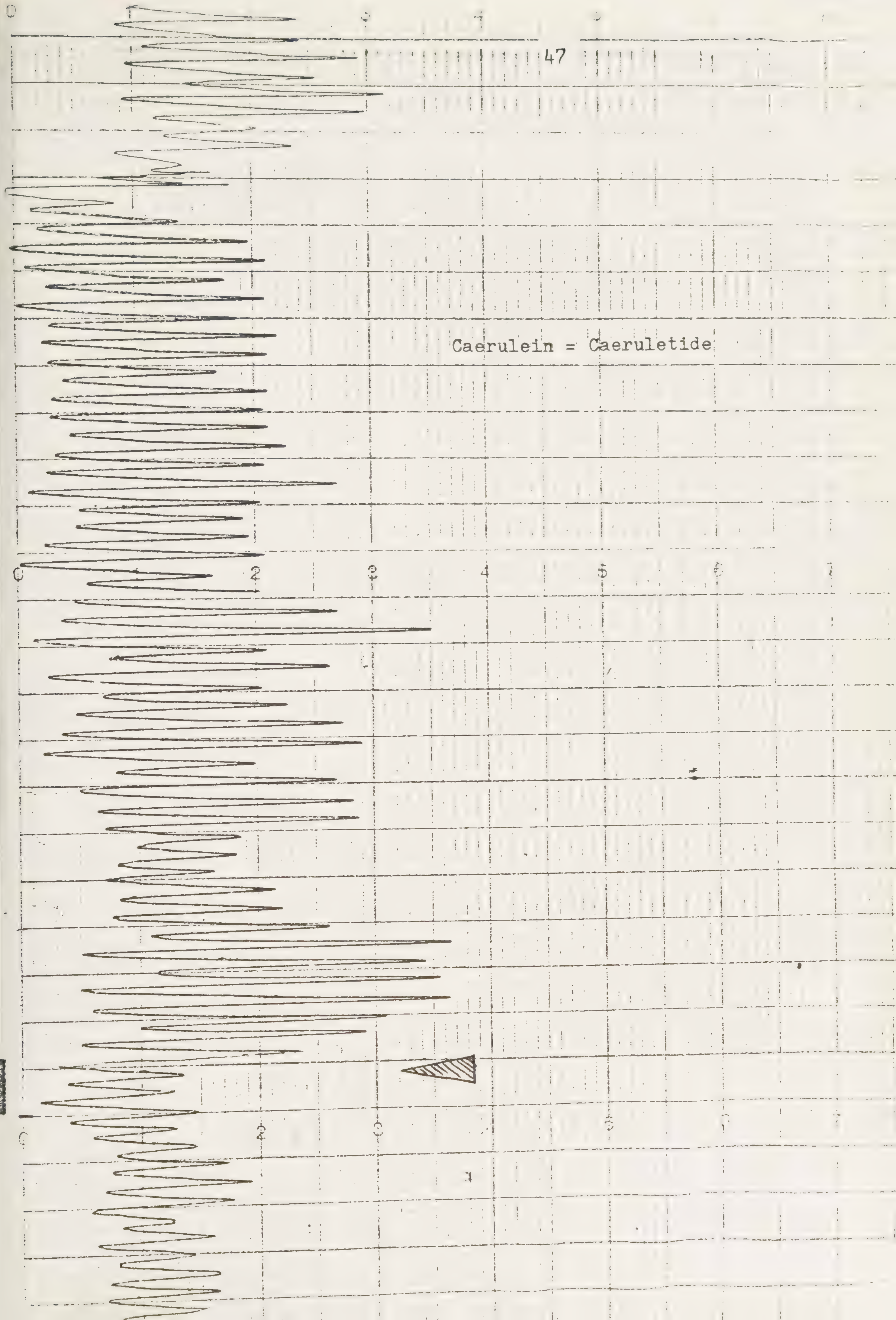


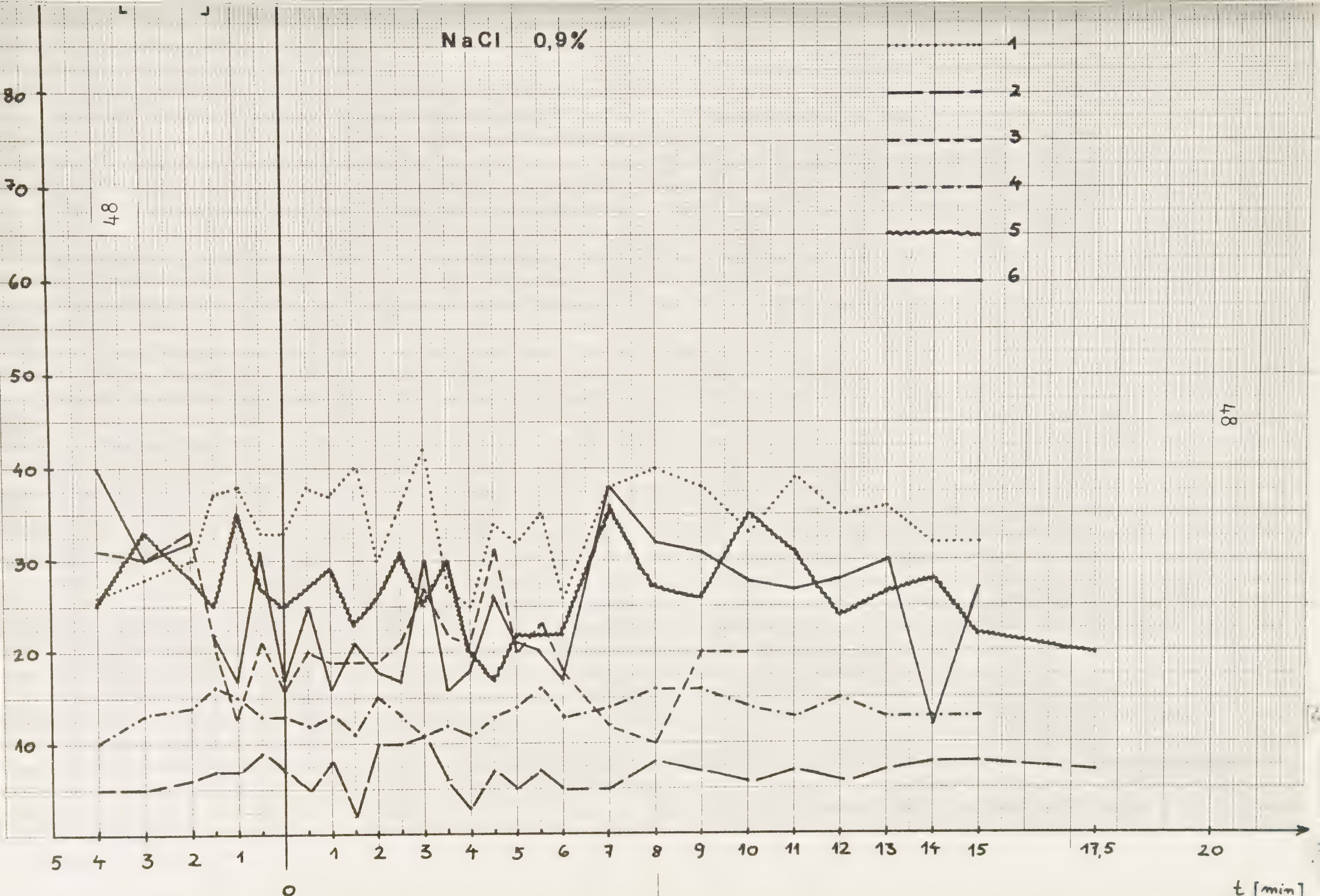
O- Gruppe mit NaCl o,9%

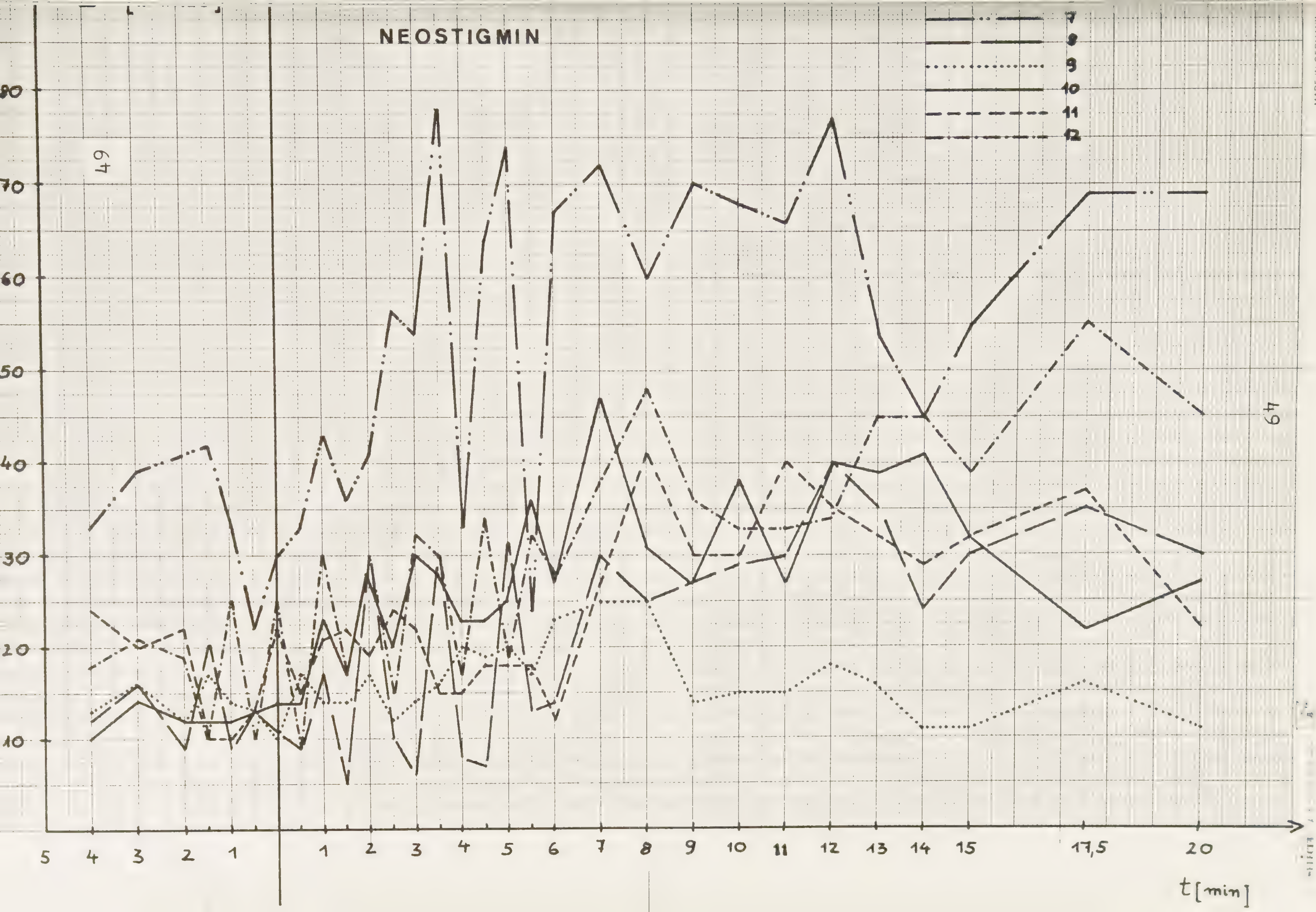

Neostigmiin
0 1 2 4

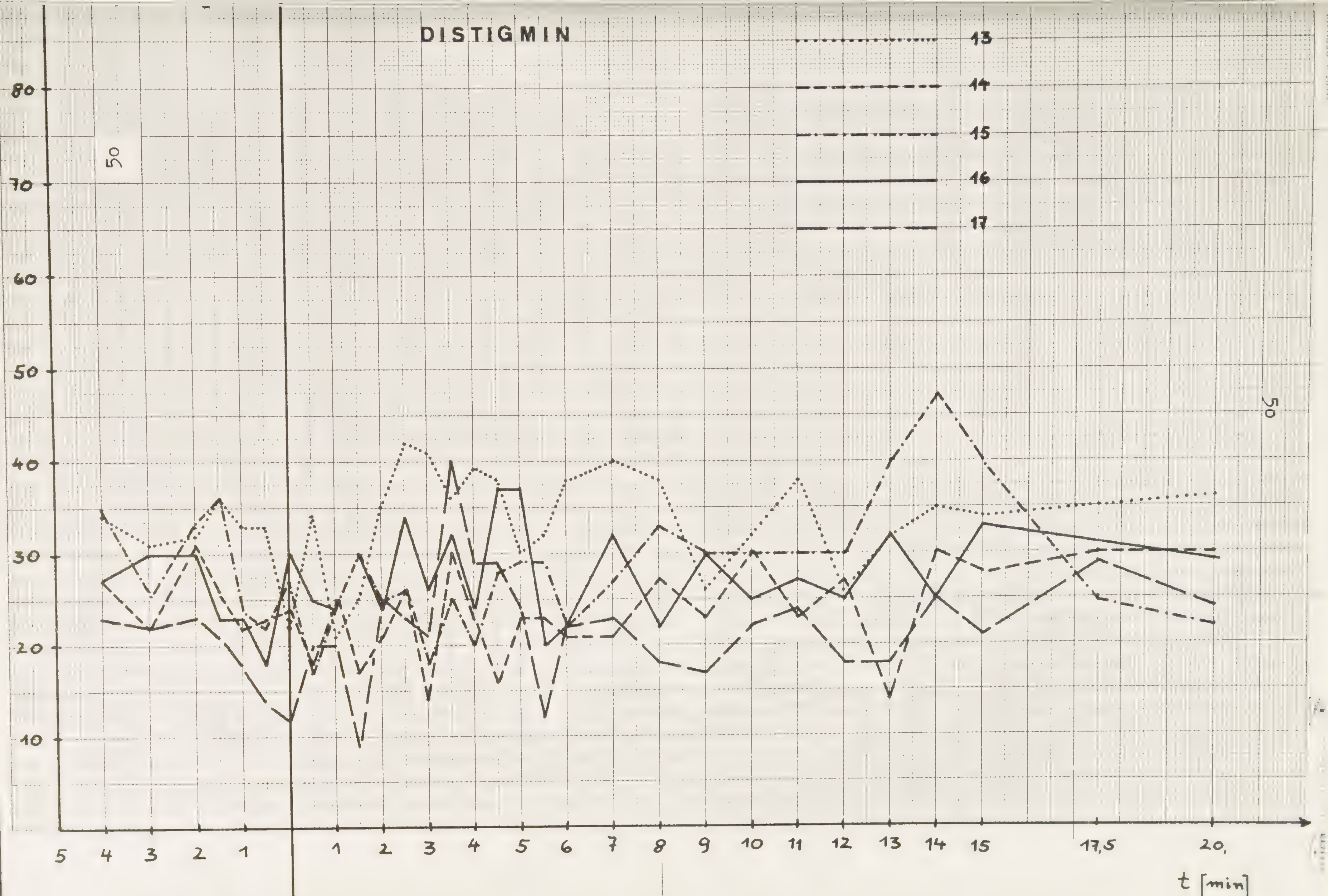

0
1
3
4
5
6
7
Distigmin
0
1
7


Caerulein = Caeruletide

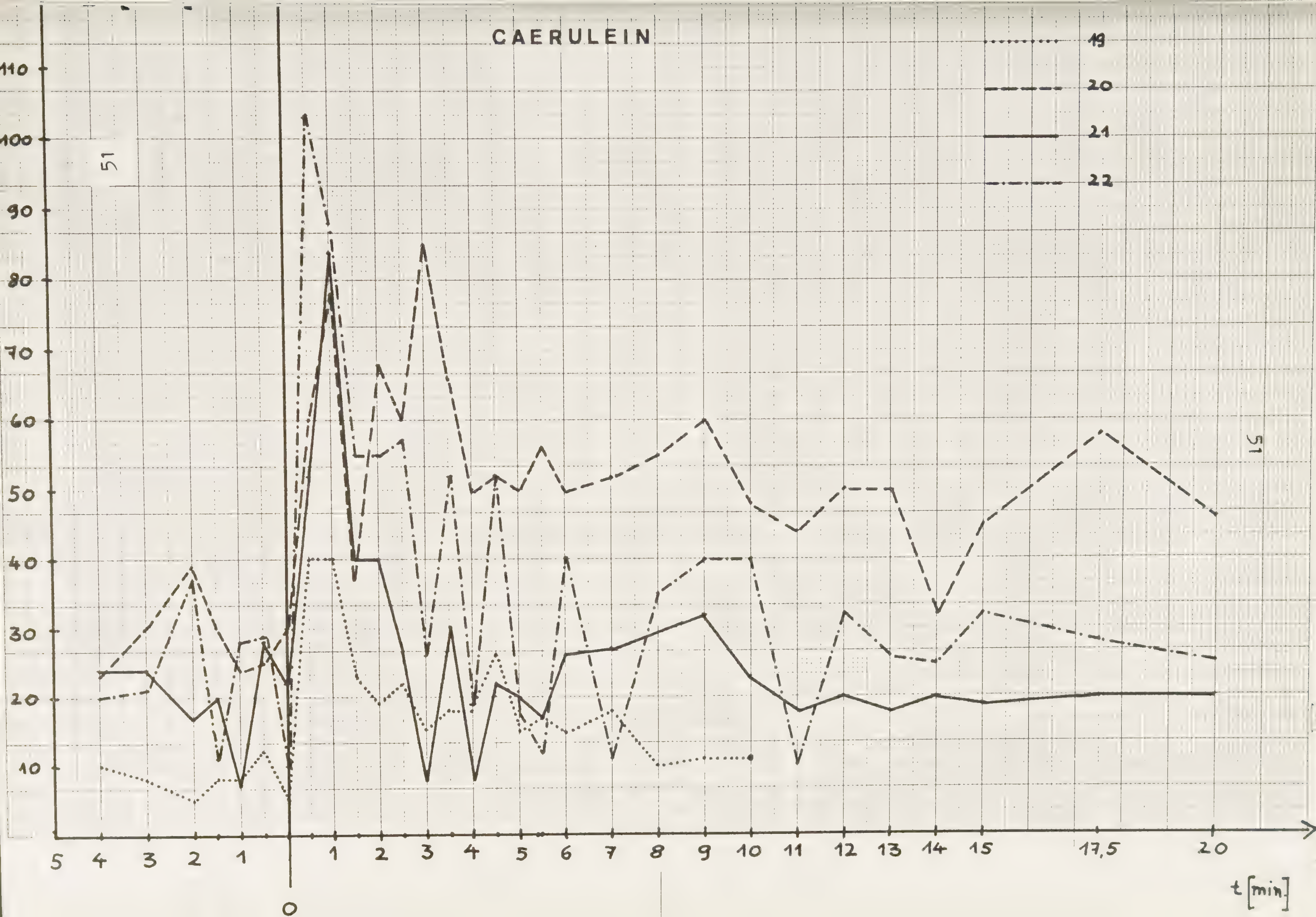

Caerulein = Caeruletide


NaCl 0,9%
1
2
3
4
5
6
80
70
60
50
40
30
20
10
5 4 3 2 1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 17,5 20
t [min]
48
48

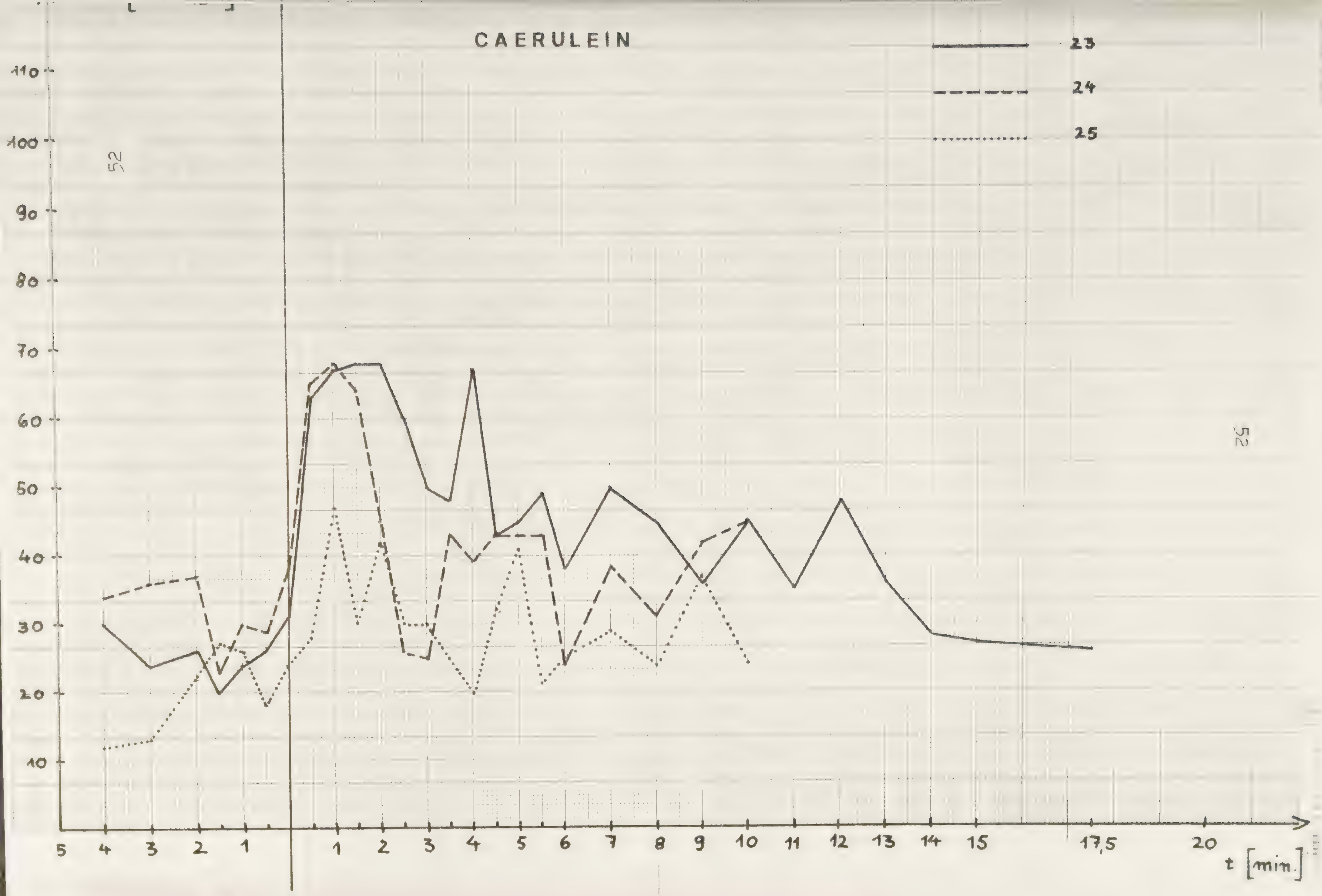

NEOSTIGMIN
7
8
9
10
11
12
80
70
60
50
40
30
20
10
5
4
3
2
1
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
17,5
20
t [min]
49
MADE IN GERMANY

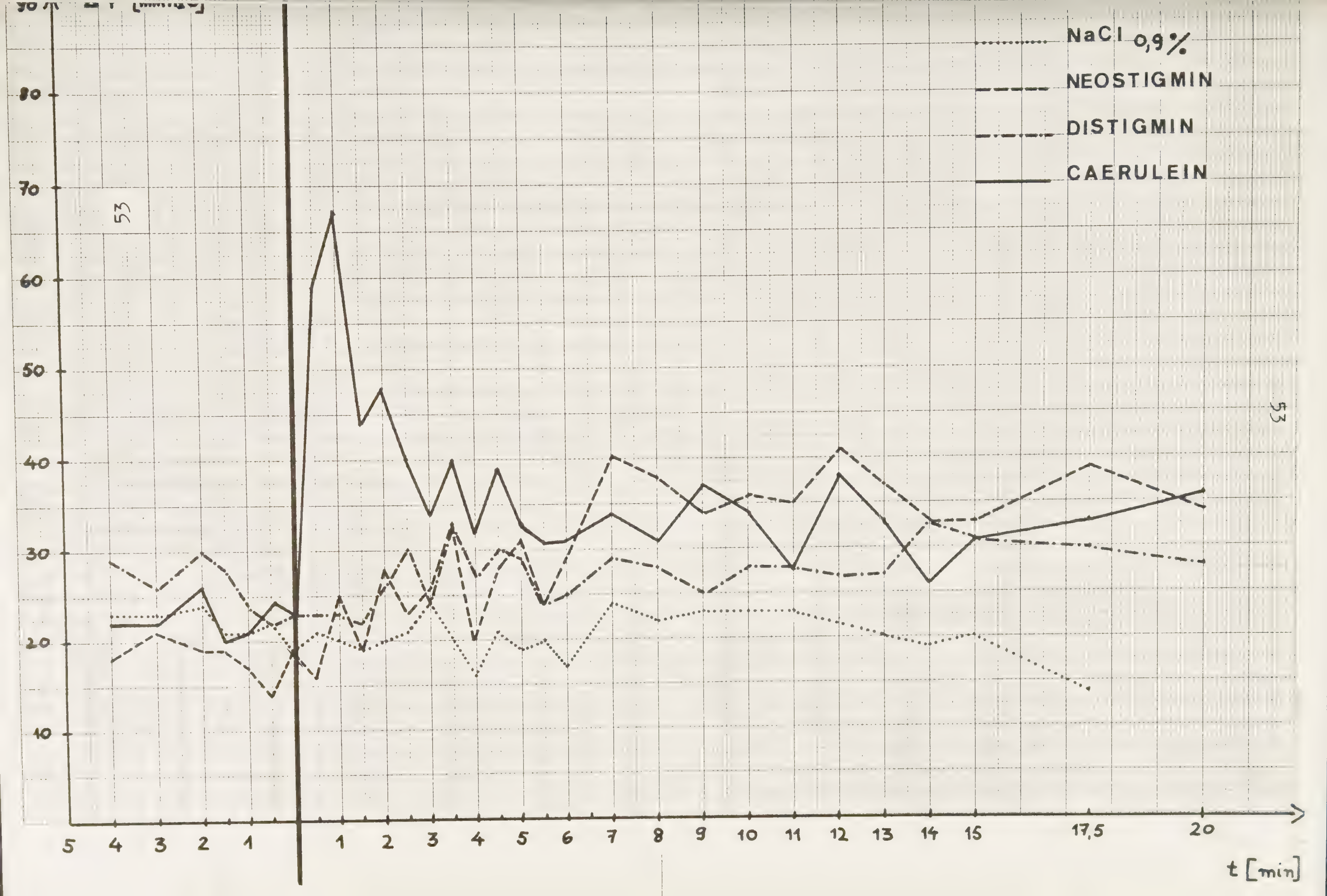


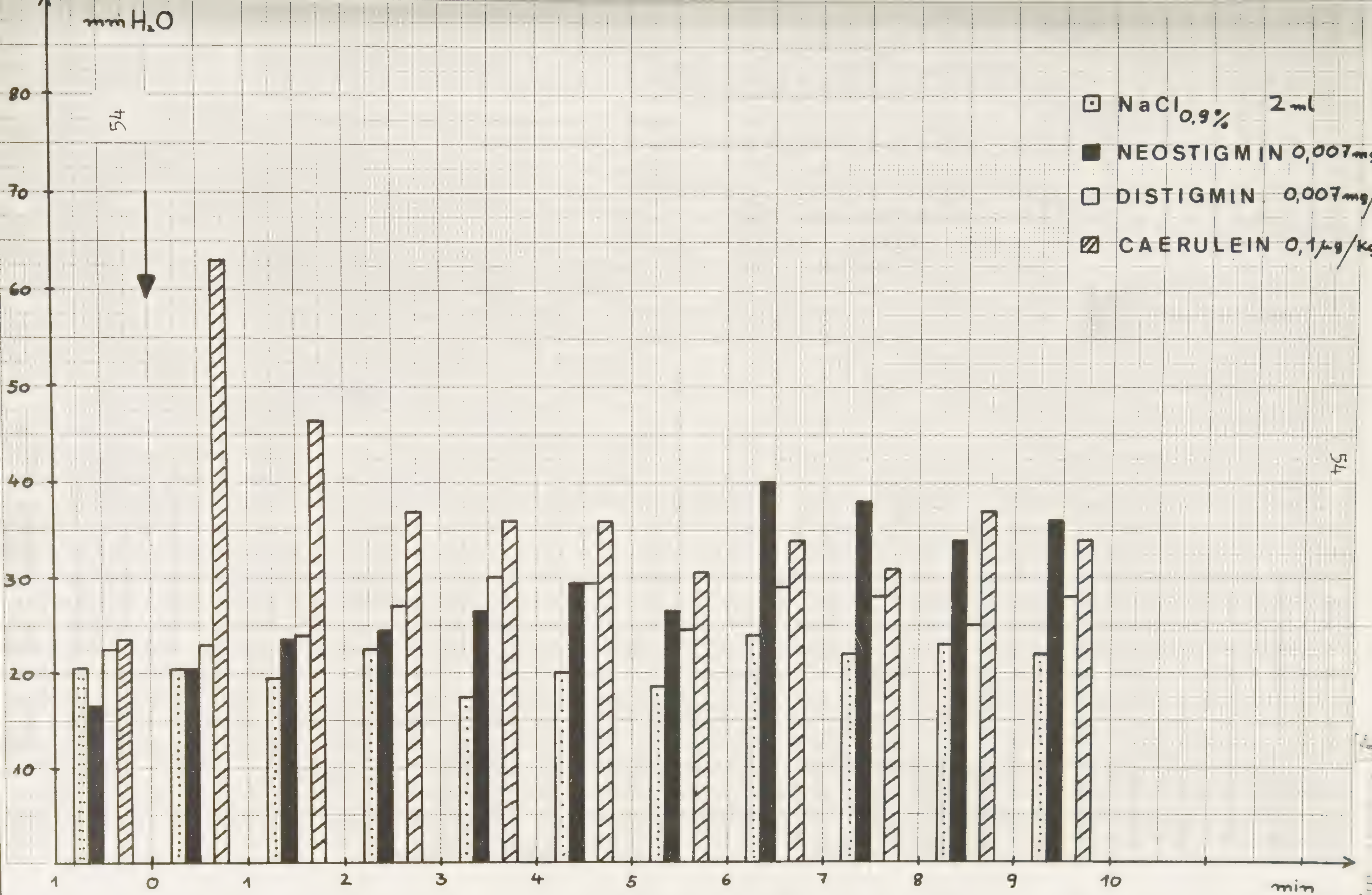
DISTIGMIN
13
14
15
16
17
80
70
60
50
40
30
20
10
50
50
5
4
3
2
1
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
17,5
20,
t [min]
MADE IN GERMANY

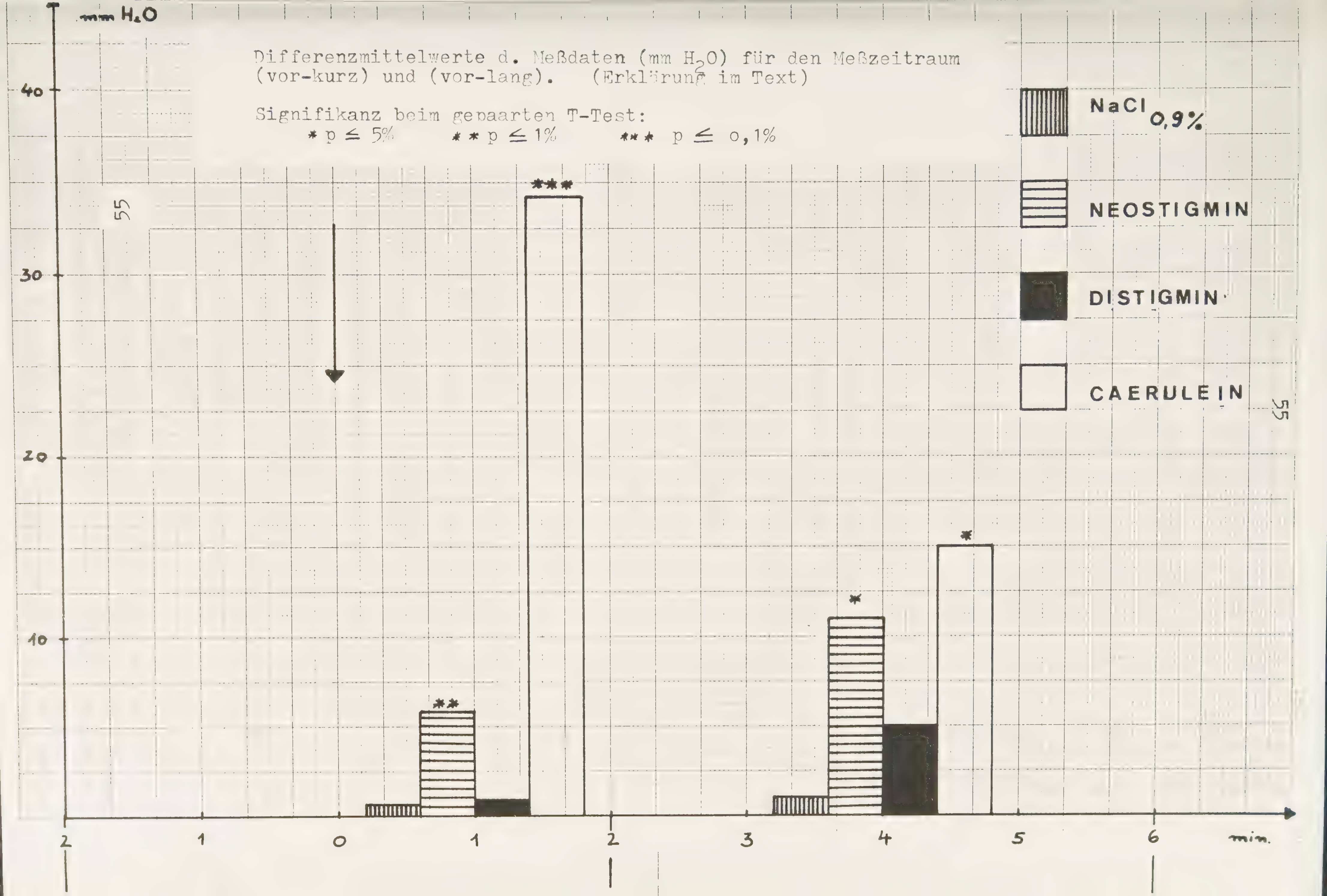


CAERULEIN
19
20
21
22
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
5 4 3 2 1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 17,5 20
t [min]
51
51
MADE IN GERMANY


CAERULEIN
23
24
25
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
5
4
3
2
1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
17,5
20
t [min.]


NaCl 0,9%
NEOSTIGMIN
DISTIGMIN
CAERULEIN
t [min]
5 4 3 2 1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 17,5 20
10 20 30 40 50 60 70 80
53


mm H2O
80
70
60
50
40
30
20
10
54
NaCl 0,9% 2 ml
NEOSTIGMIN 0,007 mg/
DISTIGMIN 0,007 mg/
CAERULEIN 0,1 µg/kg
1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
min


mm H₂O
Differenzmittelwerte d. Meßdaten (mm H2O) für den Meßzeitraum
(vor-kurz) und (vor-lang). (Erklärung im Text)
Signifikanz beim gepaarten T-Test:
* p ≤ 5%
** p ≤ 1%
*** p ≤ 0,1%
NaCl 0,9%
NEOSTIGMIN
DISTIGMIN
CAERULEIN
40
30
20
10
2
1
0
1
2
3
4
5
6
min.
55

Lebenslauf

Rainer Kirscht, Hebelstr. 9
7881 Schwörstadt
17. 11. 1947 in Sasbachwalden geboren.

Eltern	Vater: Hermann Kirscht, Apotheker;
	Mutter: Magdalena, geb. Nitz, Apothekenhelferin
Ausbidung	
1954 - 1958	Volksschule in Fahrnau
1958 - 1967	Gymnasium in Schopfheim
1967 - 1969	Praktikum der Pharmazie in der Hirsch - Apotheke in Lörrach
1970 - 1971	Studium der Pharmazie an der TH Karlsruhe
1971 - 1977	Studium der Medizin an der Universität Freiburg
Prüfungen	
10. 6. 1967	Abitur am Gymnasium in Schopfheim
13. 9. 1969	Vorexamen der Pharmazie in Freiburg
13. 6. 1977	Staatsexamen im Fach Humanmedizin an der Universität Freiburg
Tätigkeit	
Oktober 1969	Apothekerassistent in der Hirsch - Apotheke in Lörrach
11. 69 - 4. 70	Apothekerassistent in der Bärenfels - Apotheke in Grenzach
5. 70 - 10. 70	Apothekerassistent in der Bahnhof - Apotheke in Schopfheim
8. 77 - 11. 77	Medizinalassistent in der Inneren Abt. des Kreiskrankenhauses in Müllheim
1. 78 - 6. 78	Medizinalassistent in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Lörrach
7. 78 - 9. 78	Medizinalassistent in der Inneren Abt. des Städtischen Krankenhauses Schopfheim

Rainer Kirscht